

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD PARA LA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO DISPONIBLE EN SUELOS

QUALITY PARAMETERS EVALUATION FOR THE DETERMINATION OF AVAILABLE PHOSPHOROUS IN SOILS

*Johnbrynnner García Galvis** y *María Inés Ballesteros***

Recibido: 3/10/05 – Aceptado: 2/06/06

RESUMEN

En la actualidad existen varios procedimientos para la determinación de fósforo disponible en suelos, en donde el fósforo es cuantificado por métodos colorimétricos por medio del desarrollo de un complejo coloreado azul (ácido fosfomolibdico); en uno, el color se presenta al utilizar como agente reductor ácido ascórbico y en el otro al emplear cloruro estannoso; ambos métodos utilizan la misma solución extractora de Bray II, cuya importancia radica en que presenta una muy buena correlación con la respuesta de cultivos en suelos ácidos, como son la mayoría de suelos de Colombia. Al comparar las dos metodologías se encontró que el método más sensible y con los mejores límites de detección y cuantificación para la determinación de fósforo es el que utiliza como agente reductor ácido ascórbico y tartrato de antimonio y potasio. Al evaluar la precisión del sistema y del método se observó que tanto los coeficientes de variación como las desviaciones estándar fueron me-

nores en este método, por tanto se considera como el más preciso para la determinación de fósforo.

Palabras clave: fósforo disponible, suelos, Bray II, parámetros de calidad.

ABSTRACT

There are some colorimetric procedures for determining available phosphorous in soils, and phosphorous is evaluated by means of a blue complex (phosphomolibdic acid); in one of the methods, color appear when ascorbic acid is used as reductor agent, and in the other when stannous chloride is used. Both methods use the same extractive solution Bray II due to its good response for acid soil cultures, like most Colombian soils are. When the two methodologies were compared it was found that the most sensible method and with the best limit of detection and quantification was the one that uses ascorbic acid, antimonium and potassium tartrate. Its variation coefficients and standard de-

* Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

** Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Correo electrónico: miballesteros@unal.edu.co

viation were lower, and for this reason it is considered as the most precise method for phosphorous determination.

Key words: Available phosphorous, soils, Bray II, Quality parameters.

INTRODUCCIÓN

Existe una gran variedad de métodos de extracción del fósforo del suelo, que no dejan de ser un reflejo de la complejidad del comportamiento del elemento (1). El método Bray II utiliza como medio de extracción del fósforo una solución de fluoruro de amonio en ácido clorhídrico diluido, la cual conduce a la disolución de algunos fosfatos presentes en el suelo como los de calcio, hierro y aluminio; además, gracias a la presencia de fluoruro de amonio en la disolución ácida se da la formación de complejos con iones trivalentes de hierro y aluminio, con la consecuente liberación del fósforo (2).

Una vez extraído el fósforo, éste es cuantificado por medio de la reacción del azul de molibdeno en la cual la tonalidad azul es obtenida del producto de reducción del ácido molibdofosfórico, mediante cloruro estannoso en medio acidificado con ácido clorhídrico; el color azul también se puede desarrollar al reducirse el ácido ascórbico (3). Es de aclarar que se habla de fósforo disponible como la fracción más inmediata utilizada por la planta para su respectivo desarrollo, y una variación en tal fracción será la responsable de los cambios en el crecimiento de la planta.

El problema radica en que existen diferencias en los procedimientos para la determinación de fósforo disponible en sue-

los, tales como la relación suelo-extractante, el tiempo y tipo de agitación, así como diferencias relacionadas con la determinación de fósforo en el extracto, como el método del desarrollo del color, la longitud de onda de lectura espectrofotométrica, el tiempo de lectura y la periodicidad con que se realice la curva de calibración (4). En el presente trabajo se evaluaron algunos de los parámetros de calidad de las metodologías analíticas utilizadas para la determinación de fósforo disponible en suelos, estableciendo las características para la aplicación de los métodos, como sus limitaciones en la cuantificación y los posibles factores que afectan la medición (5, 6).

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelos. Se evaluaron tres tipos de suelos, con contenidos altos, medios y bajos de materia orgánica. Las muestras fueron procedentes de Mondoñedo (Cundinamarca), Rosario (Antioquia) y Villa de Leyva (Boyacá).

Método 1. El fósforo del suelo se extrae con 25 mL de la solución extractora de HCl 0,1 N y NH_4F 0,03 N, se agita, se filtra y se cuantifica colorimétricamente el fósforo disponible por reacción con ácido cloromolibdico y cloruro estannoso, para formar un complejo de color azul cuya intensidad es proporcional a la cantidad del elemento presente en la muestra a una longitud de onda de 660 nm. Además, se construye una curva de calibración con patrones de fosfato monobásico de potasio R.A. en un intervalo de 0 a 10 ppm siguiendo el mismo procedimiento realizado a la muestra (7).

Método 2. Pesar 2,85 g de suelo y agregar junto con 20 mL de solución ex-

tractora a un tubo de ensayo de 50 mL, agitar durante 40 segundos manualmente y cronometrando el tiempo. Filtrar la suspensión de inmediato. Posteriormente se cuantifica el fósforo colorimétricamente por medio de la formación de un complejo azul, producto de la reducción del ácido molibdofosfórico obtenido mediante ácido ascórbico más tartrato de antimonio y potasio (8).

Este procedimiento se sigue con las disoluciones patrón de fósforo de manera que las soluciones finales de fósforo varían entre 0,05 y 2,0 ppm. Leer a 660 nm, después de 15 minutos.

Reactivos. Fluoruro de amonio R.A., ácido clorhídrico concentrado, molibdato de amonio G.R., tartrato de antimonio y potasio, ácido sulfúrico concentrado, ácido ascórbico, cloruro estannoso, fosfato monobásico de potasio R.A.

Metodología. Verificación de los parámetros de las metodologías analíticas para la determinación de fósforo disponible en suelos, tales como longitud de onda de máxima absorción, y del intervalo lineal de concentración mediante las curvas de Ringbom.

Evaluación de los parámetros de calidad para las dos metodologías en estudio tales como exactitud del sistema, precisión del método, cantidad mínima cuantificable y detectable.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Verificación de los parámetros de las metodologías analíticas para la determinación de fósforo disponible en suelos.

En las Figuras 1 y 2 se observa el espectro de absorción correspondiente para cada método de análisis para el producto de reducción del ácido molibdofosfórico.

En la Figura 1 se observa claramente que al emplear el método 1, el espectro muestra dos longitudes de onda de máxima absorción las cuales se dan específicamente a 660 nm y a 730 nm. En el caso de la Figura 2, es decir, al utilizar el método 2, el espectro también muestra dos longitudes de onda de máxima absorción, una a 710 nm y otra 890 nm. Comparando ambos espectros obtenidos con los reportados por Murphy y Riley en 1962, se nota que las curvas de absorción y sus respectivas longitudes de onda de máxima absorción son muy similares.

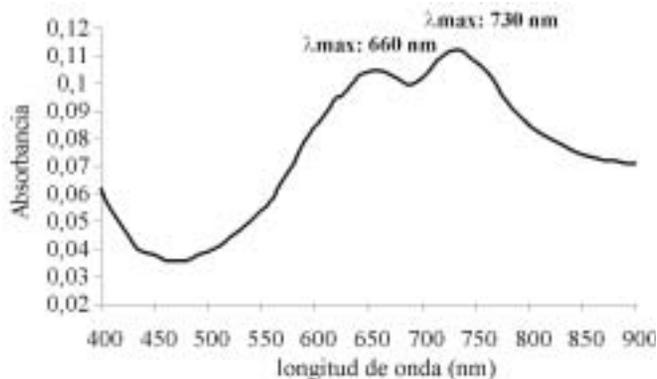


Figura 1. Espectro de absorción del ácido molibdofosfórico reducido con cloruro estannoso.

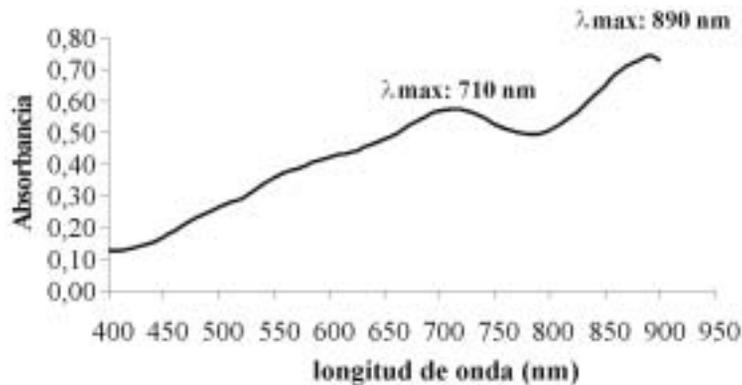


Figura 2. Espectro de absorción del ácido molibdofosfórico reducido con ácido ascórbico + tartrato de antimonio y potasio.

Una vez evaluada la longitud de máxima absorción se construyeron las respectivas curvas de Ringbom (Figuras 3 y 4), obteniendo los siguientes intervalos lineales los cuales fueron de 0,80-3,00 ppm en fósforo para el método 1 a una longitud de máxima absorción de 730 nm, y de 0,30-1,60 ppm en fósforo para el método 2 a una longitud de onda de máxima absorción de 890 nm.

En las curvas de calibración obtenidas por el método 1 se consiguieron coeficientes de regresión lineal inferiores a los obtenidos para el método 2, los cuales

fueron mejores, siendo todos ellos superiores a 0,999 y encontrándose en un intervalo de 0,9992-0,9996. Además, con el fin de saber si existían datos anómalos en la regresión, se analizaron los gráficos de residuos para cada una de las curvas de calibración realizadas por los dos métodos; en todos se comprobó que hay una distribución satisfactoria de los residuos (Figuras 5 y 6), en donde éstos no tienen ninguna tendencia establecida ni ningún dato anómalo, sino valores de residuos de absorbancia con una distribución aleatoria lo que nos indica que estos

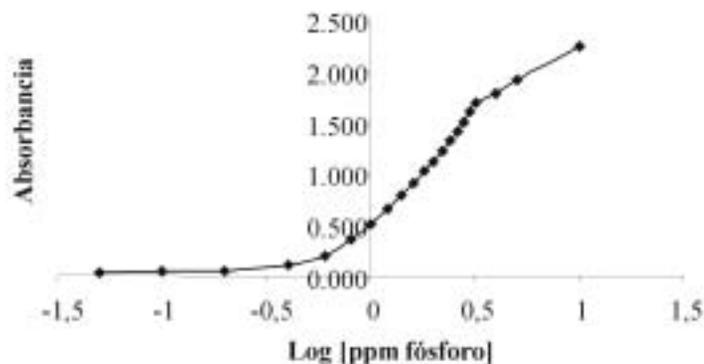


Figura 3. Curva de Ringbom para la determinación del intervalo lineal en la cuantificación de fósforo por el método 1 a 730 nm.

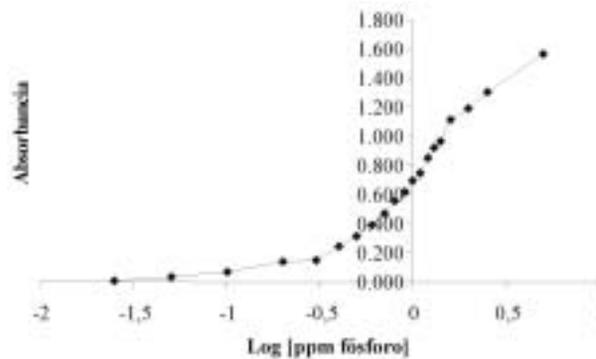


Figura 4. Curva de Ringbom para la determinación del intervalo lineal en la cuantificación de fósforo por el método 2 a 890 nm.

resultados no están sujetos a errores sistemáticos.

Evaluación de los parámetros de calidad

Cantidad mínima detectable y cuantificable. Para los dos métodos de cuantificación se obtuvieron resultados muy diferentes, en el método 1 se obtuvo un límite de detección de 0,0092 ppm en fósforo con un nivel de confianza del 95%, mientras que en el método 2 el límite de detección fue menor 0,0035, siendo ésta la mínima cantidad de analito que puede ser

detectada (10, 11). El límite de cuantificación de fósforo en el caso del método 1 resultó de 0,031 ppm y en el método 2 fue de 0,012 ppm, valores que se encuentran por debajo del intervalo de respuesta lineal encontrado en las curvas de calibración, el cual iniciaba en 0,80 ppm en fósforo para el método 1 y en 0,30 ppm para el método 2.

Exactitud. Se encontró que al aplicar la prueba t-student para los niveles bajos de concentración en cada método (Tabla 1), éstos son mayores comparándolos con el t tabulado (4g.1, P=0,05) el cual es de 2,776 (10) rechazando de esta forma la

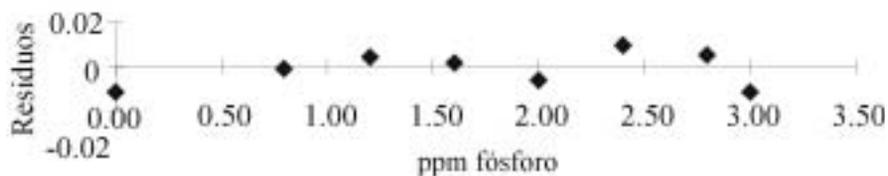


Figura 5. Gráfico de los residuos curva de calibración método cloruro estannoso.

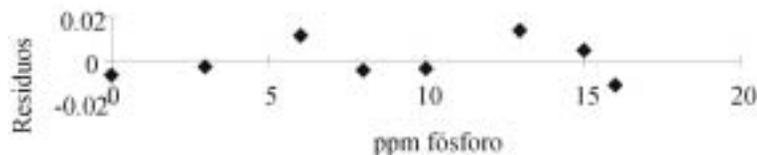


Figura 6. Gráfico de los residuos curva de calibración método ácido ascórbico.

Tabla 1. Resultados prueba t-student de los métodos de estudio para cada uno de los diferentes niveles de concentración de fósforo

		Recuperación promedio (%)	Desviación estándar (ppm)
Método cloruro estannoso	0,10 ppm fósforo	54,68	0,00638
	1,00 ppm fósforo	99,35	0,0252
	3,00 ppm fósforo	94,70	0,0223
Método ácido ascórbico	0,05 ppm fósforo	95,46	0,00134
	0,50 ppm fósforo	99,65	0,00230
	1,50 ppm fósforo	100,1	0,00370

hipótesis nula y dando evidencia de la existencia de errores sistemáticos en la determinación de fósforo por ambos métodos de cuantificación al analizar concentraciones bajas de fósforo.

En cambio, en los niveles de concentración medios y altos de fósforo todos los valores t-student calculados fueron menores al t tabulado (4g.l, $P=0,05$) el cual es de 2,776, indicando así que para estos niveles de concentración en fósforo analizados no hay evidencia de la existencia de errores sistemáticos y por tanto la cantidad de fósforo encontrada no

muestra diferencias significativas con la esperada (12).

Precisión del método. En los resultados encontrados se observa que al comparar ambos métodos, en todas las muestras de suelos es mayor el contenido en ppm de fósforo al utilizar el método 2 que en el método 1, lo cual indica que la determinación de fósforo disponible en suelos por el método Bray II utilizando cloruro estannoso está sujeta a errores sistemáticos que no permiten cuantificar completamente la cantidad de fósforo disponible en suelos (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados obtenidos de fósforo disponible por ambos métodos de estudio

Suelo	ppm en fósforo Método 1	ppm en fósforo Método 2
Mondoñedo	2,24	2,77
Villa de Leyva	4,82	4,59
Zipaquirá	111,06	118,52

También en estos resultados se puede ver que al implementar las metodologías por el método 2, en todas las muestras de suelos se obtienen valores de coeficiente de variación mucho menores que los obtenidos para cada tipo de suelo al utilizar el método 1. En el método 1 el intervalo de los coeficientes de variación está entre 1,92 y 16,50%, mientras que por el método 2 es mucho menor encontrándose entre 0,44 y 4,64% (Figura 7).

Evaluación de la metodología para lograr las mejores condiciones de análisis

Una vez escogido el método Bray II utilizando los agentes reductores ácido ascórbico y tartrato de antimonio y potasio como la mejor opción para analizar el fósforo disponible en suelos, se realizó una evaluación más completa del método para dicha determinación, y debido a la gran variabilidad en los procedimientos para la

determinación de fósforo disponible en suelos, fue necesario realizar ensayos con el fin de conocer si existen diferencias significativas al variar los recipientes de extracción, y mucho más al utilizar diferentes tipos de agitación: manual y mecánica, ya que al tener un mayor conocimiento de estos factores podrían solucionarse algunos problemas asociados a la interpretación del resultado del análisis del fósforo disponible puesto que las diferencias metodológicas causan incertidumbre en el resultado final.

Se encontró (Figura 8) que al agitar manualmente siempre se obtienen coeficientes de variación mayores que al realizar la agitación mecánica en los tres diferentes recipientes de extracción; esto debido a que al agitar manualmente la forma de agitar varía, y además la fuerza y la forma de agitar son subjetivas y dependen bastante del experimentador. También se aprecia que los mayores coeficientes de

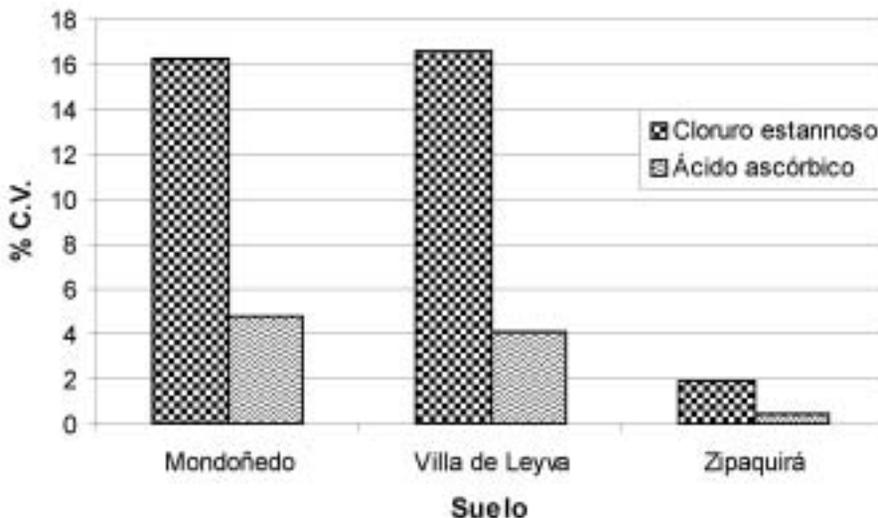


Figura 7. Gráfico de C. V. De los métodos en estudio en la cuantificación de fósforo disponible en los diferentes suelos utilizados para la implementación.

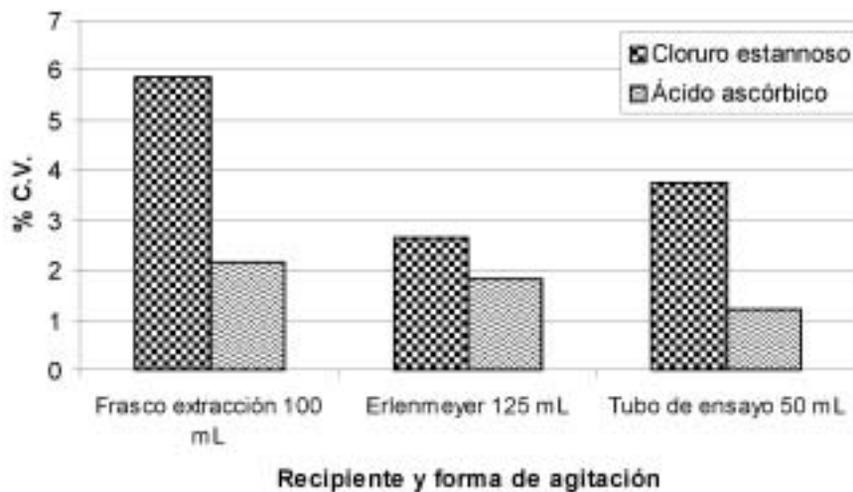


Figura 8. Gráfico de los coeficientes de variación obtenidos al evaluar los recipientes de extracción y la forma de agitación.

variación se obtuvieron al utilizar tubos de ensayo como recipientes de extracción, en comparación con los erlenmeyer de 125 mL y con los frascos plásticos los cuales presentan una extracción similar.

Es importante resaltar que tanto en la agitación manual como mecánica, la cantidad de fósforo extraída utilizando tubos de ensayo fue menor en comparación con la extraída en frascos y erlenmeyer, los cuales presentan valores promedio muy similares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Demolon, A. (1966). Crecimiento de vegetales cultivados. Barcelona: Ediciones Omega, p. 199-224, 251-257.
2. Fassbender, H. W. (1975). Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, p. 221-223.
3. Mengel, K.; Kirkby, E. A. (1982). Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute, p. 11-24.
4. Boschetti, G.; Quintero, C.; Díaz, M.; Barraco, M. (1991). Determinación del fósforo disponible en el suelo por el método Bray, II Jornada Nacional del Fósforo del Suelo. Comité de Química de Asociación Argentina de la Química del Suelo, PROMAR (Programa de Métodos Analíticos de Referencia).
5. Kateman, G.; Buydens, L. (1993). Quality Control in Analytical Chemistry. 2 ed. New York: Wiley, p. 79-114, 140-155.
6. Taylor, J. K. (1981). Quality Assurance of Chemical Measurements. *Anal. Chem.* **53**. 1588-1596A.

7. Jackson, M. L.(1958). *Soil Chemical Analysis*. 2 ed. Englewood Cliffs. N. J.: Prentice may. p. 183-185.
8. Navarro, G.; Navarro, S. (2000). *Química agrícola*. España: Ediciones Mundi Prensa, p. 141-146.
9. Harvey, D. (2002). *Química analítica moderna*. España: McGraw-Hill, p. 27-37, 41-65, 493-499.
10. Miller, J. C.; Miller, J. N. (1993). *Statistics for Analytical Chemistry*. 2 ed. London: Ellis Horwood PTR Prentice Hall, p. 77-82, 111-115, 125-130, 189-194.
11. Kratochvil, B.; Taylor, J. K. (1981). *Sampling for Chemical Analysis*. *Anal. Chem.* **53**. 924A-938A.
12. Green, J. M. (1996). *A Practical guide to Analytical Method Validation*. *Anal. Chem.* **68**. 305A-309A.