



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN
DE FÓSFORO ASIMILABLE EN SUELO DE TIPO ANDISOL**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: NICOLE ESTHEFANIA VIZUETE ALTAMIRANO.

DIRECTOR: Ing. ANDRÉS AGUSTIN BELTRÁN DÁVALOS MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, Nicole Esthefania Vizuite Altamirano

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, NICOLE ESTHEFANIA VIZUETE ALTAMIRANO, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 20 de abril de 2022






Nicole Esthefania Vizuete Altamirano

CI:0605779032

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: el Trabajo de Titulación: Tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO ASIMILABLE EN SUELO DE TIPO ANDISOL**, realizado por la señorita: **NICOLE ESTHEFANIA VIZUETE ALTAMIRANO**, ha sido revisado minuciosamente por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Juan Carlos González García, PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		<u>2022-04-20</u>
Ing. Andrés Agustín Beltrán Dávalos, MsC. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		<u>2022-04-20</u>
Ing. Sofía Carolina Godoy Ponce, MsC. MIEMBRO DE TRIBUNAL		<u>2022-04-20</u>

DEDICATORIA

A Dios quien ha sido mi guía y fortaleza que con su infinito amor y fidelidad me ha permitido llegar hasta este momento tan especial en mi vida.

A mis padres Ángel y Anita quienes, con su esfuerzo me han hecho posible llegar a cumplir hoy un sueño más, porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hacen de mí una mejor persona.

A mis hermanos Santiago y Kathy por su cariño y apoyo incondicional durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento. Y a mi amuleto de la buena suerte, mi compañera fiel, Gracias.

Nicole

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud a Dios por sus bendiciones y a toda mi familia por estar siempre presentes.

De igual manera mis agradecimientos a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, la Facultad de Ciencias, de manera especial a todas las autoridades y técnicos de laboratorio que conforman el Grupo de investigación GIDAC, por abrirme las puertas y permitirme realizar todo el proceso investigativo dentro de su grupo.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento a mi director de trabajo de titulación el Ingeniero Andrés Beltrán, quien con su dirección, asesoramiento y colaboración permitió el desarrollo de esta investigación.

Nicole

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN	xiii
SUMARY	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Antecedentes.....	5
1.2. Bases teóricas.....	6
1.2.1. <i>El comportamiento del fósforo en el suelo</i>	6
1.2.1.1. <i>El comportamiento en un andisol</i>	8
1.2.1.2. <i>El comportamiento en un Histosol</i>	8
1.2.1.3. <i>El fósforo en suelos calcáreos</i>	9
1.2.1.4. <i>El fósforo en suelos ácidos</i>	9
1.2.2. <i>El fósforo como elemento limitante en la producción agrícola</i>	9
1.2.3. <i>La importancia del fósforo como elemento nutritivo de las plantas</i>	10
1.2.3.1. <i>Factores que afectan la disponibilidad del fósforo en el suelo</i>	10
1.2.3.2. <i>Factores que incrementan la concentración de fósforo en el suelo</i>	11
1.2.4. <i>El fósforo como factor de edafotransferencia</i>	12
1.2.5. <i>Estandarización de metodologías para análisis de P intercambiable en suelos</i>	13
1.3. Bases conceptuales	14

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.....	15
2.1. Tipo de Investigación.....	15
2.2. Diseño de la Investigación.....	15
2.3. Identificación de variables.....	15
2.3.1. <i>Variable Dependiente</i>	15

2.3.2.	<i>Variables Independiente</i>	15
2.4.	Localización del Estudio	16
2.5.	Población de estudio	16
2.6.	Tamaño de la muestra	16
2.7.	Manejo de las muestras	16
2.8.	Técnicas de recolección de datos	17
2.9.	Materiales de Laboratorio	17
2.10.	Procedimiento Analítico	18
2.10.1.	<i>Soluciones patrones para el desarrollo de color</i>	18
2.10.2.	<i>Solución patrón de fósforo</i>	19
2.10.3.	<i>Método Olsen</i>	19
2.10.4.	<i>Método Bray-Kurtz II</i>	20
2.11.	Determinación de la linealidad del sistema	22
2.12.	Linealidad del método	22
2.13.	Límite de cuantificación	23
2.14.	Análisis de costos	23
2.15.	Modelo Estadístico	23

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1.	Análisis de Resultados	24
3.1.1.	<i>Determinación de la linealidad del sistema</i>	24
3.1.2.	<i>Linealidad del método</i>	26
3.1.2.1.	<i>Método OLSEN</i>	26
3.1.2.2.	<i>Método BRAY - KURTZ</i>	27
3.1.2.3.	<i>Correlación entre Absorbancia y Concentración</i>	29
3.1.3.	<i>Análisis de las muestras de suelo</i>	30
3.1.3.1.	<i>Análisis de las muestras de suelo por zonas</i>	32
3.1.3.2.	<i>Normalidad de los datos</i>	33
3.1.3.3.	<i>Test pareado de Wilcoxon</i>	35
3.2.	Costos	36
3.3.	Efectividad de métodos de análisis de P para la microcuenca del río Cebadas ... 37	

CONCLUSIONES	39
RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Materiales de Laboratorio.....	18
Tabla 1-3:	Valores experimentales evaluados.....	24
Tabla 2-3:	Resumen de los resultados estadísticos para la linealidad.....	25
Tabla 3-3:	Valores estadísticos del conjunto longitud de onda del método Olsen.....	26
Tabla 4-3:	Valores estadísticos del conjunto concentración del método Olsen.....	26
Tabla 5-3:	Valores estadísticos del conjunto absorbancia del método Bray-Kurtz.....	28
Tabla 6-3:	Valores estadísticos del conjunto concentración del método Bray-Kurtz.....	28
Tabla 7-3:	Niveles críticos de Fósforo en el suelo de muestras de andisoles.....	30
Tabla 8-3:	Resumen estadístico para concentración empleando el método Olsen.....	31
Tabla 9-3:	Resumen estadístico para concentración empleando el método Bray-Kurtz.....	31
Tabla 10-3:	Comparación de las dos metodologías por zona.....	32
Tabla 11-3:	Normalidad de los Datos obtenidos Método Olsen.....	33
Tabla 12-3:	Normalidad de los Datos obtenidos Método Bray-Kurtz.....	33
Tabla 13-3:	Datos obtenidos del test de Wilcoxon.....	35
Tabla 14-3:	Costo de reactivos método Bray-Kurtz.....	36
Tabla 15-3:	Costo de reactivos método Olsen.....	37
Tabla 16-3:	Efectividad.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Ciclo del fósforo	7
Figura 2-1: Suelo andisol en Ecuador.....	8
Figura 3-2: Preparación de las soluciones	22

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Linealidad del sistema método Bray-Kurtz.....	24
Gráfico 2-3:	Linealidad del sistema método Olsen.....	25
Gráfico 3-3:	Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto (Método Olsen).....	27
Gráfico 4-3:	Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto (Método Olsen).....	27
Gráfico 5-3:	Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto (Método Bray-Kurtz).....	29
Gráfico 6-3:	Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto (Método Bray-Kurtz).....	29
Gráfico 7-3:	Correlación absorbancia-concentración Método Olsen.....	29
Gráfico 8-3:	Correlación absorbancia-concentración Método Bray-Kurtz.....	30
Gráfico 9-3:	Concentración de Atillo, Ozogоче y Yasipán	33
Gráfico 10-3:	Normalidad de los datos Long. Onda (Método Olsen).....	34
Gráfico 11-3:	Normalidad de los datos PPM (Método Olsen).....	34
Gráfico 12-3:	Normalidad de los datos Long. Onda (Método Bray-Kurtz).....	34
Gráfico 13-3:	Normalidad de los datos PPM (Método Bray-Kurtz).....	35
Gráfico 14-3:	Test de Wilcoxon.....	35

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: FASE DE LABORATORIO

ANEXO B: PROTOCOLO DE DETERMINACIÓN DE FÓSFORO ASIMILABLE EN
MUESTRAS DE SUELO

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la efectividad de un método para la determinación de fósforo asimilable en muestras de andisoles de la microcuenca del río cebadas pertenecientes al Grupo de Investigación-Desarrollo para el Ambiente y Cambio Climático (GIDAC). Se utilizaron 145 muestras de andisoles mediante las metodologías espectrofotométricas (Bray-Kurtz y Olsen), se evaluaron los parámetros de linealidad del método, linealidad del sistema, correlación entre ambos métodos y normalidad de los datos. Los resultados obtenidos para las muestras de suelo fueron 4.517 ppm y 0.5370 ppm de fósforo para los métodos Bray-Kurtz y Olsen respectivamente, el extractante Bray-Kurtz extrajo mayor cantidad de fósforo (P) en comparación con Olsen, 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). 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 extractante, 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. Se concluyó que el método más preciso para determinar fósforo en andisoles fue el de Bray-Kurtz debido a una comparación de eficacia y eficiencia de los dos métodos, siendo este el más efectivo tomando en cuenta el requisito de calidad determinado por el porcentaje de varianza y el uso óptimo de tiempo y recursos. Una vez culminado el proceso de estandarización del método en el laboratorio se recomendó utilizar los datos obtenidos para realizar un monitoreo periódico, estableciendo parámetros para su control en futuros estudios del Grupo de Investigación.

Palabras clave: <ANDISOL>, <MICROCUCENCA RÍO CEBADAS>, <FÓSFORO ASIMILABLE>, <MÉTODO OLSEN>, <MÉTODO BRAY-KURTZ>.



0898-DBRA-UTP-2022

SUMMARY

The current research evaluated the effectiveness of a method for the estimation of assimilable phosphorus in andisol samples from Cebadas River microbasin belonging to the Development for the Environment and Climate Change Research Group (GIDAC). A total of 145 andisol samples were used by means of (Bray-Kurtz and Olsen) spectrophotometric methodologies, and the method linearity parameters, system linearity, correlation between both methods and normality of the data were evaluated. The results obtained for the soil samples were 4.517 ppm and 0.5370 ppm of phosphorus for the Bray-Kurtz and Olsen methods respectively, the Bray-Kurtz extractant extracted more phosphorus (P) compared to Olsen, these results can be attributed to the fact that the acid solution of Bray-Kurtz promotes the partial dissolution of inorganic colloids, and the extracted forms of P linked to calcium (Ca-P), iron (Fe-P) and aluminum (Al-P). While the values obtained by Olsen's method result from the possible dissolution of organic phosphorus due to the high pH (8.50) of the extractant solution, considering that in acid soils the formation of carbonates is inhibited, which does not allow the release of P from the aforementioned inorganic forms. It was concluded that the most accurate method for determining phosphorus in andisols was the Bray-Kurtz method due to a comparison of the effectiveness and efficiency of the two methods, taking into account the quality requirement determined by the variance percentage and the optimal use of time and resources. Once the method standardization process was completed in the laboratory, it was recommended to use the data obtained in order to perform a permanent monitoring, establishing parameters for its control in future studies carried out by the Research Group.

Keywords: <ANDISOL>, <CEBADAS RIVER MICROBASIN>, <ASSIMILABLE PHOSPHORUS>,<OLSEN METHOD>, <BRAY-KURTZ METHOD>.



Lic. Paúl Rolando Armas Pesántez, Mg.

C.I. 060328987-7

INTRODUCCIÓN

En Ecuador los suelos han sido expuestos a procesos de degradación como resultado de la actividad humana y los páramos en particular no se han escapado a esta realidad, destacando que este ecosistema representa aproximadamente el 6% del territorio nacional y entre los páramos de la Sierra centro se encuentra el Chimborazo, que presenta suelos de tipo Andisoles los cuales se caracterizan por poseer un alto contenido de materia orgánica, lo que favorece el desarrollo de especies forestales (SIGTIERRAS, 2010: p.4) Sin embargo, los problemas asociados con el avance de la frontera agrícola y el crecimiento de la población, ha ocasionado el agotamiento de las tierras bajas y la disminución del rendimiento de los cultivos (Cunalata y Inga, 2012: p19). Por lo que, analizar la disposición de nutrientes es fundamental para el desarrollo de estrategias dirigidas a la conservación y restauración de este tipo de suelo.

En este contexto, el fósforo (P) es un elemento natural que existe en el suelo y está catalogado como uno de los tres nutrientes principales debido a la cantidad relativamente grande que requieren las plantas, por lo que, generalmente se agregan a los suelos agrícolas como parte de los fertilizantes (Wang et al., 2015: pp.60-68). Así mismo, su aporte se ha reconocido desde hace mucho tiempo como esencial para mantener niveles económicamente viables de producción de cultivos (Sims et al., 1998: p.280).

La concentración de fósforo asimilable en suelo es siempre bajo debido a la absorción continua de la planta y se complica por la lenta reposición del fósforo extraído de la solución del suelo por la reserva lábil que es dictada por los equilibrios del fósforo del suelo. También se debe enfatizar que la concentración de la reserva de fósforo disponible es dictada por las condiciones predominantes del suelo en un momento particular y la capacidad del cultivo para extraer el fósforo de la solución del suelo (Holford, 1997: pp. 227-240). Por lo que, se ha dedicado mucho esfuerzo al desarrollo de pruebas de suelo que determinen la concentración de fósforo disponible para las plantas y si esa concentración es suficiente o no para un crecimiento óptimo de los cultivos.

En este sentido, el fósforo del suelo está más disponible para uso de las plantas a valores de pH de 6 a 7. Cuando el pH es inferior a 6, el fósforo disponible se encuentra cada vez más atrapado en fosfatos de aluminio y a medida que los suelos se vuelven más ácidos (pH por debajo de 5), el fósforo se fija en los fosfatos de hierro. En tales suelos, los primeros productos formados serían los fosfatos amorfos de Al y Fe, así como algunos fosfatos de calcio. Por lo que, la disponibilidad de fósforo es muy baja en suelos alcalinos y calcáreos debido al alto contenido de carbonato de calcio y arcilla en el suelo, mientras que, en suelos calcáreos, la dinámica del fósforo está controlada por muchas propiedades del suelo que retienen fuertemente el fósforo y como resultado, mantienen una baja concentración en la solución del suelo (Turner et al., 2007: p.1170). La estimación del fósforo en el suelo por métodos de laboratorio es de gran importancia en un

programa eficaz de recomendación de fertilizantes fosfatados y en la literatura se encuentran un gran número de pruebas para la estimación del fósforo en el suelo disponible para las plantas. No obstante, ninguno de los métodos puede recomendarse para ningún suelo, a menos que dichos métodos se evalúen y calibren adecuadamente con respecto a una combinación particular de suelo y planta (Bray & Kurtz, 1945: pp. 39-45).

Las pruebas de fósforo del suelo que se utilizan hoy en día proporcionan una indicación del nivel de fósforo del suelo que está disponible ambiental y agronómicamente para la planta., la reserva de fósforo que es de mayor interés en el suelo es el fósforo fácilmente soluble que se considera igual al fósforo disponible en la planta (fósforo lábil). Para medir el fósforo lábil, se han desarrollado muchas pruebas de extracción de rutina y los resultados de estas pruebas guían la fertilización del suelo (Balemi y Negisho,2012: pp.547-561). Estas pruebas no determinan la concentración total de fósforo en el suelo o incluso la concentración real de fósforo disponible, pero proporcionan una medición del índice del fósforo que puede ser absorbido por la planta (Carmo y Torrent, 2007: pp.285-287).

Los métodos utilizados para evaluar el estado de fósforo de los suelos incluyen la extracción con agua, ácidos débiles, bases, sales y resina de intercambio aniónico, entre otros. No obstante, estos extractores químicos no son aplicables a todos los tipos de suelo y el uso inadecuado puede resultar en la amortiguación del extractante y la disolución del fósforo no lábil (Myers et al., 2005: pp.86-96). Por lo tanto, se puede esperar que los métodos puedan dar resultados diferentes para el mismo suelo, por lo que es necesario comparar datos de varios métodos de extracción de laboratorio para establecer el óptimo según las características del suelo estudiado.

Conjuntamente, es necesario considerar los posibles impactos ambientales asociados al uso de los métodos evaluados, motivado a que demandan el uso reactivos distintos que pueden poseer diferentes niveles de toxicidad o requerir un mayor consumo de recursos naturales para su producción, además de evaluar la posible gestión deficiente de las aguas residuales resultantes de los procesos de análisis en los laboratorios, por lo que es posible que uno de los métodos de extracción de fósforo puede tener asociado un mayor nivel de contaminación que debe ser considerado dentro de los elementos valorados en la selección.

En este contexto, la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) dispone de un personal compuesto por docentes y estudiantes dedicados a realizar investigaciones en el campo de la gestión ambiental denominado Grupo de Investigación-Desarrollo para el Ambiente y Cambio Climático (GIDAC) y entre sus investigaciones se proyecta el análisis de suelos andisoles, dada la importancia de revisten por sus propiedades físico-químicas y usos en contextos de producción agrícola; no obstante, no se dispone de un protocolo interno para la evaluación de fósforo, que disponga de una valoración previa para determinar su efectividad técnica, económica y ambiental.

Así mismo, uno de los elementos requeridos para evaluar este tipo de suelos, corresponde a la caracterización de la concentración de fósforo. No obstante, según se indicó previamente para efectuar estas evaluaciones se dispone de varios métodos de extracción de laboratorio; por lo que es necesario que se verifique a través de un proceso de estandarización y validación, el método pertinente y óptimo según las características del suelo a evaluar. De forma que los resultados obtenidos en los proyectos de investigación sean efectuados bajo un mismo método y así evitar errores de cuantificación de fósforo, que podría afectar los resultados finales de las investigaciones que se efectúen.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los suelos andisoles que pertenecen al ecosistema del páramo andino del Ecuador, se han visto afectados por la intervención humana como la agricultura y el sobrepastoreo y este deterioro está generando un riesgo en la capacidad de recuperación del suelo, ocasionando así efectos irreversibles (Llambí, et al., 2012: pp.22-24). Además, estos suelos presentan propiedades físicas, químicas e hidrofísicas particulares que hacen necesario su evaluación en distintos campos, además de la necesidad de determinar el impacto de las actividades antrópicas y la necesidad de fertilización (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016: pp.7-20).

En este contexto, el fósforo es un macronutriente y debe ser cuantificado debido a que puede ser un elemento limitante para el desarrollo de las plantas (Mixquitla y Villegas, 2016: pp.56-58). No obstante, su cuantificación puede efectuarse por diferentes métodos de laboratorio que dependen principalmente de las características particulares del suelo (Carrero et al., 2015, pp.29-33).

En base a lo expuesto, es necesario evaluar los métodos de extracción disponibles con el objetivo de estandarizar y validar el método que será usado por el Grupo de Investigación-Desarrollo para el Ambiente y Cambio Climático (GIDAC) y la facultad de ciencias ESPOCH en sus investigaciones y proyectos de cuantificación de fósforo en andisoles. Esto permitirá el desarrollo de un protocolo efectivo que se utilizará en las investigaciones que se efectúen y facilitará la comparación de resultados, descartando que el método utilizado para la medición de fósforo pueda afectar su fiabilidad.

Así mismo, al considerar los factores técnicos, económicos y ambientales en la selección de un método óptimo para la cuantificación del fósforo, se valoran los posibles impactos en términos de recursos consumidos y residuos generados, permitiendo disponer de un método de extracción eficiente y eficaz, seleccionado objetivamente y que contribuirá a los procesos de investigación de suelos sustentables.

Es necesario comprender las fuentes de error en los análisis de fósforo del suelo, ya sea como resultado de la varianza entre laboratorios, la variabilidad geográfica del paisaje donde han sido

recolectadas las muestras, las restricciones de extracción o una combinación de estas variables, con el fin de disponer de un método que se encuentre validado y estandarizado según las características del suelo, lo que permitirá establecer criterios de confianza del método analítico como exactitud, precisión, linealidad, límite de detección, sensibilidad, entre otros.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Evaluar la efectividad de un método para la determinación de fósforo asimilable en andisoles de la microcuenca del Río Cebadas.

Objetivos Específicos

- Determinar la concentración del fósforo asimilable por los métodos Olsen y Bray-Kurtz en andisoles.
- Comparar la efectividad del método Olsen y Bray-Kurtz en la determinación de fósforo en andisoles.
- Establecer un protocolo estandarizado para el GIDAC en la determinación de fósforo asimilable en andisoles.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Se han realizado varios estudios para la evaluación de los métodos de extracción de fósforo, entre los que se mencionan el estudio de (Carrero et al., 2015: pp.29-33), en el que evaluaron los métodos Olsen y Bray-Kurtz, para lo cual utilizaron dos muestras compuestas obtenidas del Campo Experimental Mucuchíes-INIA. Los resultados obtenidos fueron de 4,85 unidades de pH, 53,3 y 253,0 μg de P/g para los métodos Olsen y Bray- Kurtz, respectivamente, mientras que, para la muestra sin manejo agrícola se obtuvo 5,54 unidades de pH, 19,7 y 38,7 μg de P/g, respectivamente. Se evaluaron los coeficientes de variación para ambas metodologías dando como resultado que el método más preciso para determinar fósforo en suelos en medios ácidos fue el de Bray- Kurtz.

Así mismo se tiene el estudio de (Pérez et al., 2019), que estudio la comparación de métodos para determinación de fósforo extraíble en suelos de la región semiárida pampeana, a través de los métodos Bray Kurtz 1 (B&K) y Olsen. Las muestras se clasificaron considerando su valor de pH, reacción al test Fieldes Perrott y calcáreo. En todos los casos se observó diferencia significativa entre los métodos B&K y Olsen. Si bien se observó una relación lineal significativa entre ambos métodos, los coeficientes de determinación calculados estuvieron en el rango 0,12 a 0,79. En base a los resultados obtenidos no es recomendable el uso de ecuaciones de regresión para estimar los resultados de P alcanzados por Olsen a partir de los resultados conseguidos por B&K, en los suelos bajo estudio.

En el estudio de (Fernández y Mendoza, 2008), se compara dos de los métodos de evaluación de disponibilidad de P del suelo (Bray I y Olsen), debido a la variabilidad observada en los distintos tipos de suelo, en particular en los Entisol, Alfisol y Vertisol, para lo cual, se realizó un ensayo en invernadero para cada una de las muestras de suelo y luego se los incubó durante 25 días y posteriormente se determinó el P disponible mediante los procedimientos recomendados para los métodos de Bray I, Olsen y Strip. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que todos los métodos de evaluación de la disponibilidad de P del suelo describieron de manera adecuada y significativa las relaciones entre materia orgánica (R^2 entre 0,35 a 0,95, y valores extremos para el Vertisol y el Entisol), %P (con R^2 entre 0,92 y 0,95) y P absorbido (R^2 entre 0,93 y 0,96 y con muy pocas diferencias entre los suelos) con el P extractado por los tres métodos.

Finalmente, en el estudio de (Iatrou et al, 2014), se comparó el método de Mehlich 3 para la determinación del fósforo disponible (P) con el método de Olsen. Los objetivos de este estudio

fueron comparar los métodos de Mehlich 3 y Olsen para 200 suelos que tienen diferentes niveles de pH y carbonato de calcio, obteniendo, que la correlación de los métodos Mehlich 3 P y Olsen P, excluyendo suelos con pH menor a 5 y suelos con niveles de carbonato de calcio de 10.3 a 48.3%, resultó en una pendiente lineal de 0.24 y r^2 de 0.82, y por lo tanto para este rango de suelos la prueba de Mehlich 3 proporcionó una medición más confiable de P en comparación con el método de Olsen.

1.2. Bases teóricas

1.2.1. El comportamiento del fósforo en el suelo

El fósforo es un nutriente esencial para el crecimiento de los cultivos y junto al N, el segundo macronutriente más importante para la nutrición de las plantas y está involucrado en muchos procesos de las plantas como la respiración, la fotosíntesis, la generación de energía, la biosíntesis de ácidos nucleicos y es un componente integral de varias estructuras de la planta. No obstante, debido a la baja disponibilidad en los suelos, es el macronutriente menos accesible en la mayoría de los suelos agrícolas y, por lo tanto, es el nutriente deficiente con mayor frecuencia (Balemi y Negisho, 2012: pp.547-561).

Aproximadamente del 15 al 80% del P total se encuentra en la forma de P orgánico que incluye una variedad de compuestos como fosfolípidos (1 a 5% de P orgánico), ácido nucleico (0,2 a 2,5%), inositol-fosfatos (2 a 50%), fosfatos metabólicos (trazas), fosfatos de azúcar y otros compuestos desconocidos (> 50%), además, el fósforo forma complejos insolubles con cationes como Al y Fe en suelos ácidos y esta reacción restringe la disponibilidad P, mientras que, en condiciones alcalinas, el P forma complejos con Ca y Mg (Cordell, Rosemarin, Schröder, & Smit, 2011). La absorción de P por las raíces de las plantas del suelo se produce en forma de iones de ortofosfato inorgánico ($H_2PO_4^-$ o HPO_4^{2-}) presentes en la solución del suelo, dependiendo del pH del suelo (Cade, 2019: p.19).

El ciclo del P en los suelos es un fenómeno muy complicado y está influenciado por varios factores que incluyen la naturaleza de las fases inorgánicas y orgánicas presentes, las formas y el grado de actividad biológica que se produce, la química de la solución del suelo como el pH, la fuerza iónica y el potencial redox y otros factores ambientales como el contenido de agua del suelo y la temperatura del suelo (Balemi y Negisho, 2012: pp.547-561). La mineralización, inmovilización, adsorción, desorción, precipitación y disolución son los principales procesos involucrados en el ciclo P. La Figura 1-1 se refiere a todos estos procesos involucrados en la conversión de P en el suelo y la atmósfera.

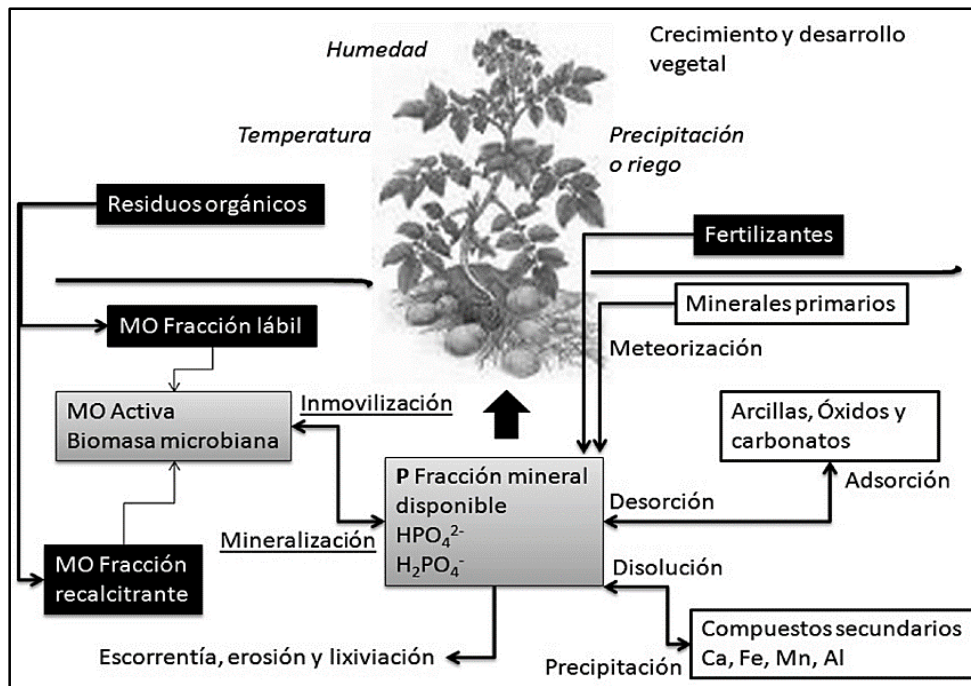


Figura 1-1: Ciclo del fósforo

Fuente: Cerón y Aristizabal, 2020.

Muchos suelos en todo el mundo tienen deficiencia de fósforo, debido a la alta reactividad del fósforo soluble con calcio, hierro y aluminio que conduce a su precipitación en el suelo, por lo que, a menudo está presente en formas no disponibles o en formas que solo están disponibles fuera de la rizosfera, además, el fósforo generalmente tiene una alta afinidad por el suelo, lo que resulta en un lento movimiento descendente a través de la matriz del suelo o lateralmente a través del interflujo (Carmo y Torrent, 2007: pp.285-287).

En solución del suelo, el fósforo está disponible para las plantas en dos formas iónicas que incluyen H_2PO_4 y HPO_4^{2-} , conocido como iones ortofosfato primario y secundario respectivamente. La solubilidad del fósforo está restringida ya que los iones fosfato cargados negativamente pueden unirse a iones cargados positivamente de hierro (Fe), aluminio (Al), calcio (Ca) a través de reacciones con aluminio y óxidos e hidróxidos de hierro, así como calcio (Ca) y magnesio (Mg) compuestos a pH bajo y alto respectivamente, para formar sustancias relativamente insolubles a través de fuerzas electrostáticas (Turner et. al., 2007: p.1170).

Estas formas iónicas de fósforo solubilizado dependen del pH de la solución, siendo la especie predominante en suelos ligeramente ácidos el H_2PO_4^+ y la de los suelos con un pH superior a 7 es el HPO_4^{2-} . El fósforo solubilizado se puede lixiviar del suelo, absorberse en óxidos de Fe y Al y en los bordes minerales de partículas de arcilla, precipitar como minerales secundarios de calcio, hierro o aluminio o ser absorbido por organismos vivos. Cuando esto ocurre, el fósforo se considera fijo o inmovilizado. Por lo tanto, a pH neutro la solubilidad del fósforo es máxima (Turner et. al., 2007: p.1170).

1.2.1.1. El comportamiento en un andisol

Son suelos generalmente negros que se desarrollan a partir de depósitos volcánicos (ceniza volcánica, piedra pómez, lava) o de materiales piroclásticos. Manifiestan de poca a moderada evolución. Presentan un apreciable contenido de alófana (arcillas amorfas) y/o complejos de humus-aluminio, y una baja densidad aparente ($< 0,90\text{g/cm}^3$). En Ecuador estos suelos abarcan una superficie de 3819796 ha, que representan el 19% del territorio nacional cartografiado. Se ubican predominantemente en los relieves de las vertientes externas de la cordillera occidental y en los relieves del gran cono tabular de la llanura costera (SIGTIERRAS, 2010: p.4).

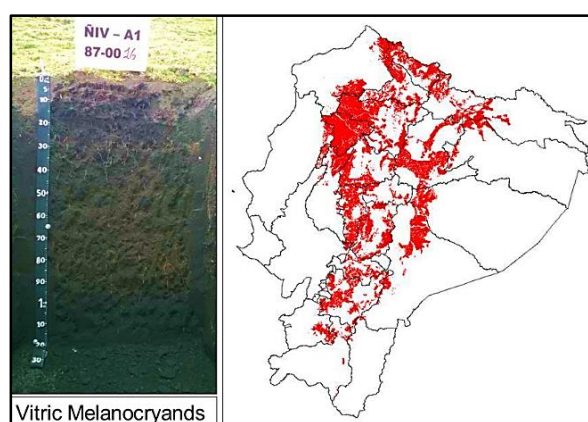


Figura 2-1: Suelo andisol en Ecuador

Fuente: Sigtierras, 2010.

Estos suelos presentan una reducida disponibilidad de fósforo (P) y una acuciante retención de fosfatos, debida a la alta composición de materiales amorfos, como la imogolita, ferrihidrita, alófano y complejos orgánicos minerales de aluminio (Al) y hierro (Fe) (Bayuelo et al., 2019: pp.1-7). No obstante, evidencia indirecta obtenida en Andisoles de Ecuador y Colombia permite concluir que la fijación de P está estrechamente relacionada con el contenido de C en el suelo (complejos humus-Al) e indirectamente, esto también indicaría cuales minerales arcillosos se formarían a partir de la ceniza volcánica en determinadas condiciones y la intensidad de la fijación de P, por lo que, aparentemente los suelos alofánicos tienden a fijar menos P (Espinosa, 2007: p.5).

1.2.1.2. El comportamiento en un Histosol

Los histosoles son suelos que se componen principalmente de materiales orgánicos con al menos un 20-30% de materia orgánica en peso y tienen más de 40 cm de espesor, se forman típicamente en entornos donde un drenaje deficiente inhibe la descomposición de restos de plantas y animales,

lo que permite que estos materiales orgánicos se acumulen con el tiempo y a menudo se denominan turbas y lodos (Aide, et al., 2020: pp.1-9). En términos del comportamiento del P, se ha determinado que existe un efecto protector de la materia orgánica humificada en la retención de P en este tipo de suelos, así como el impacto de otras propiedades como alta acidez, presencia de alófanos y deficiencia de bases intercambiables influyen igualmente en la adsorción de P (Bravo, et al., 2013: pp. 261-267).

1.2.1.3. El fósforo en suelos calcáreos

En suelos calcáreos, la retención y movilización de fósforo (P) tiene lugar debido a la precipitación y adsorción; sin embargo, no siempre es fácil distinguir entre los dos mecanismos. Los fertilizantes P solubles en agua aplicados al suelo reaccionan con los componentes del suelo para formar fosfatos menos solubles, cuando se agrega a suelos que contienen grandes cantidades de calcio, el P soluble generalmente se precipita como fosfato dicálcico o fosfato octacálcico; en concentraciones bajas de P de hasta $0,4 \text{ mg L}^{-1}$, el ditionito activo y / o Fe podría resultar en adsorción de P, mientras que, en concentraciones altas, la precipitación podría ser predominante sobre el proceso de adsorción (Naeem, et al., 2014: pp.1-6).

La reactividad del CaCO_3 en los suelos depende de la superficie específica del carbonato y de su superficie total, por lo que, se ha demostrado que el Ca^{2+} es el ion dominante en la solución del suelo de suelos calcáreos y es posible que la formación de complejos menos solubles con aniones ácidos débiles como el ortofosfato se deba a la dominancia inevitable de este ion, concluyendo que la dinámica del P es manejada por la calcita, que retiene fuertemente el P y en consecuencia, mantiene una baja concentración de P en la solución del suelo (Naeem et al., 2014: pp.1-6).

1.2.1.4. El fósforo en suelos ácidos

En suelos ácidos, el P puede ser adsorbido predominantemente por óxidos e hidróxidos de Al / Fe, como gibbsita, hematita y goetita, dado que los minerales arcillosos y los óxidos tienen grandes superficies específicas, que proporcionan un gran número de sitios de adsorción (Kwesi, 2020: pp.1-8).

1.2.2. El fósforo como elemento limitante en la producción agrícola

P es un elemento esencial para todos los seres vivos y, como tal, su disponibilidad reducida puede afectar fuertemente el crecimiento y manifestar síntomas de limitación en los cultivos, estos incluyen retraso en el crecimiento, menor macollamiento, menor número de hojas y granos, retraso en el crecimiento reproductivo y, sobre todo, la aparición de hojas rojizas o púrpuras

(Kvackic, 2019: pp.4-6). Esto se debe a que el P es un bloque de construcción fundamental de ácidos nucleicos, lípidos de membrana, metabolitos energéticos e intermediarios en el ciclo fotosintético del C en las plantas y una vez que el suministro de P es limitado, las plantas responden naturalmente para combatir la disponibilidad reducida de P a través de cambios morfológicos de las raíces (para facilitar la búsqueda de alimento en la capa superior del suelo y aumentar la longitud de las raíces), mayor excreción de ácidos orgánicos / enzimas (para movilizar las reservas de P orgánico del suelo), y ajustes internos para modificar la eficiencia del uso de P del metabolismo (Plaxton y Lambers, 2015).

En los sistemas terrestres, la limitación de P a menudo surge porque gran parte del P del suelo en realidad no está disponible para la mayoría de las plantas: dependiendo del pH, el P se une en complejos químicos con aluminio o calcio. Las deficiencias de P en los suelos agrícolas han sido reconocidas por los agrónomos, enfatizando la necesidad de reponer el P del suelo para mejorar y mantener la productividad, como resultado, durante el siglo pasado la humanidad ha movilizadom asivamente P desde fuentes geológicas para la producción de fertilizantes y agregarlo a los campos junto con N en apoyo de la "Revolución Verde" (Elser, 2012: pp.833-838).

1.2.3. La importancia del fósforo como elemento nutritivo de las plantas

1.2.3.1. Factores que afectan la disponibilidad del fósforo en el suelo

Tipo de mineral del suelo: La mineralogía del suelo tiene un gran efecto sobre la sorción de P. Los suelos volcánicos tienden a tener la mayor absorción de P de todos los suelos, ya que los suelos volcánicos contienen grandes cantidades de material amorfo. Después de los suelos volcánicos, los suelos altamente meteorizados (como Oxisoles y Ultisoles) tienen la siguiente mayor capacidad de sorción de P. Esto se debe a la presencia de grandes cantidades de óxidos de aluminio y hierro y arcillas de caolín altamente erosionadas. En el otro extremo del espectro, los suelos menos degradados y los suelos orgánicos tienen bajas capacidades de sorción de P (Channarayappa y Biradar, 2018).

Cantidad de arcilla: A medida que aumenta la cantidad de arcilla en el suelo, también aumenta la capacidad de sorción. Las partículas de arcilla tienen una gran cantidad de área de superficie donde puede tener lugar la absorción de fosfato (Jeschke, 2017: pp.1-3).

pH: A pH bajo, los suelos tienen mayores cantidades de aluminio en la solución del suelo, lo que forma enlaces muy fuertes con el fosfato. De hecho, un suelo se une al doble de fósforo en condiciones ácidas y estos enlaces son cinco veces más fuertes (Channarayappa y Biradar, 2018).

Condiciones climáticas y del suelo: Las condiciones como la temperatura, la humedad, la aireación del suelo (niveles de oxígeno) y la salinidad (contenido de sal / conductividad eléctrica) pueden afectar la tasa de mineralización de fósforo a partir de la descomposición de la materia

orgánica, por lo que, se produce una liberación de fósforo más rápidamente en climas húmedos y más lento en climas fríos y secos. Además, el fósforo se libera más rápido cuando el suelo está bien aireado (niveles más altos de oxígeno) que cuando está saturado (Jaschke, 2017: pp.1-3).

El fosfato en el suelo tiende a reaccionar con los componentes del suelo para formar compuestos relativamente insolubles, muchos de los cuales tienen una disponibilidad limitada para las plantas, siendo los principales factores que influyen en estas reacciones la concentración de fósforo en solución, cantidad de óxidos libres de hierro y aluminio, tipo y cantidad de arcilla, pH del suelo y materia orgánica, destacado que los óxidos de aluminio, los óxidos de hierro y los silicatos de arcilla son adsorbentes de fosfato bien conocidos en los suelos; por lo que, se concluye que la disponibilidad de fosfato del suelo, así como la concentración de fosfato en solución, dependerá del grado de saturación de fosfato, más que del contenido total de fosfato, definiendo la saturación de fosfato como la proporción de sitios de adsorción ocupados por fosfato, que normalmente se toma como la relación entre el fosfato adsorbido y la capacidad de adsorción de fosfato (PAC) del suelo (Kwesi, 2020: pp.1-8).

1.2.3.2. *Factores que incrementan la concentración de fósforo en el suelo*

Otros aniones, como silicatos, carbonatos, sulfatos, arseniato y molibdato, compiten con el fosfato por una posición en el sitio de intercambio aniónico. Como resultado, estos aniones pueden provocar el desplazamiento o desorción del fosfato del sitio de intercambio del suelo. La desorción hace que aumente la disponibilidad de fosfato en la solución del suelo (Channarayappa y Biradar, 2018).

La materia orgánica puede afectar la adsorción de fosfato de dos maneras: indirectamente inhibiendo la cristalización del óxido de hierro y directamente compitiendo por los sitios de adsorción, en este sentido, se ha demostrado que la materia orgánica disuelta (ácidos fúlvico y húmico) disminuye la adsorción de fosfato por los óxidos de hierro y por los suelos, particularmente a pH ácido, lo que indica que la materia orgánica disuelta puede competir con el fosfato por los sitios de adsorción. No obstante, los resultados de varios estudios permiten interpretar que para que la materia orgánica pueda actuar como competidor, debe estar en solución; de lo contrario, no tiene ningún efecto directo sobre la adsorción de fosfato, destacando que la materia orgánica del suelo puede afectar indirectamente la capacidad de adsorción de fosfato (PAC) del suelo al retardar el crecimiento de cristales de óxidos de hierro y aluminio poco cristalinos, que debido a su alta superficie específica tienen PAC muy altos (Kwesi, 2020: pp.1-8).

La materia orgánica aumenta la disponibilidad de P de cuatro formas. Primero, la materia orgánica forma complejos con el fosfato orgánico que aumenta la absorción de fosfato por las plantas. En segundo lugar, los aniones orgánicos también pueden desplazar el fosfato sorbido. En tercer lugar, el humus recubre los óxidos de hierro y aluminio, lo que reduce la absorción de P. Finalmente, la

materia orgánica también es fuente de fósforo a través de reacciones de mineralización (Channarayappa y Biradar, 2018).

1.2.4. El fósforo como factor de edafotransferencia

Las funciones de pedotransferencia o edafotransferencia, consisten en ecuaciones o conjuntos de ecuaciones que permiten estimar el valor de una propiedad del suelo a partir de otras propiedades que se pueden determinar con técnicas más simples, más rápidas, más eficientes y / o menos costosas o que ya están disponibles debido a trabajos anteriores. Las funciones de pedotransferencia generalmente se han desarrollado a partir de modelos de regresión lineal múltiple (MLR) (Khaledian, et al., 2018: pp.1110-1116). En este contexto, las funciones de pedotransferencia pueden servir de base para los estudios en el acercamiento a la identificación de los cambios generados en la dinámica de los componentes de la calidad del suelo, además de la estandarización de las metodologías y los procedimientos para la toma de los datos (Reyes, 2018). En relación con el P del suelo, el problema práctico de los modelos de simulación es que son considerados una estimación robusta de los valores de los parámetros. Sin embargo, una parametrización eficaz puede requerir procedimientos de recopilación de datos inusuales, laboriosos y a menudo, costosos, mientras que los valores obtenidos aún pueden estar limitados a sitios y condiciones específicos (Valadares et al., 2017: p.210). Considerando que las mediciones directas del P del suelo extraíble a gran escala generalmente se ven obstaculizadas por el tiempo, la mano de obra y los recursos económicos necesarios para la implementación, además, se han desarrollado múltiples métodos de extracción en todo el mundo para estimar el P, lo que hace difícil comparar los datos obtenidos para propósitos de monitoreo agronómico y ambiental (Khaledian, et al., 2018: pp.1110-1116).

Para abordar este problema, se pueden desarrollar funciones de pedotransferencia para estimar los parámetros del suelo a partir de variables medidas más rutinariamente (Valadares et al., 2017: p.210). Además, desarrollar estas funciones permitirá armonizar los datos P extraíbles obtenidos de diferentes métodos de extracción con la ayuda de otros predictores disponibles en los sistemas de información de suelos. Destacando que el desarrollo de funciones de pedotransferencia para estimar el P podrían simplificar y ampliar el uso a distintos tipos de suelo y podrían usarse, en conjunto con otras variables y funciones (por ejemplo, cinética de desorción de P en el suelo y absorción de P por las raíces de las plantas), en modelos diseñados para representar y / o predecir la dinámica de P en suelos, además de identificar las variables clave que controlan la disponibilidad de P para evaluaciones a gran escala (Khalediana et al., 2018: pp.1110-1116).

1.2.5. Estandarización de metodologías para análisis de fósforo intercambiable en suelos

El propósito de cualquier método analítico es proporcionar datos consistentes, confiables y precisos. Por esta razón, el desempeño y las limitaciones del método, así como las influencias externas que pueden modificar estas características, deben determinarse antes de su uso. La estandarización juega un papel importante en la consecución de este objetivo dado que permite establecer las características del método y luego verificar si es aplicable al propósito previsto y si sus resultados pueden ser confiables y consistentes para las futuras mediciones realizadas por el método estudiado (Peris, 2015).

Consiste en la determinación de parámetros de calidad bien definidos: estadísticos (selectividad, especificidad, curva de calibración, linealidad, rango de calibración, exactitud, precisión, recuperación, incertidumbre, límite de detección, límite de cuantificación (LOQ), límite de decisión, detección capacidad, robustez, estabilidad, idoneidad del sistema y comparación con otros métodos), así como operativo / económico (contaminación cruzada, simplicidad, tiempo de análisis, precio por análisis, seguridad para el personal de laboratorio (Magnusson & Ornemark, 2014). Y posibles impactos ambientales (Galuszka et al., 2013: pp.78-84).

Para facilitar el procedimiento de estandarización, se debe redactar un protocolo de validación completo, preferiblemente en un formato paso a paso, al comienzo del proceso, considerando los siguientes puntos (Bretnall y Clarke, 2011):

- Propósito del análisis (por ejemplo, los parámetros evaluados y los criterios de aceptación pueden ser diferentes para el control oficial de alimentos o contaminación y un control de proceso interno).
- ¿Qué respuesta se requiere (cuantitativa o cualitativa, sensibilidad, incertidumbre permitida, solo por debajo o por encima de un límite máximo de residuos, etc.)?
- El estado de agregación de la muestra y los analitos.
- Máximo tiempo y costo del análisis.
- Limitación de residuos tóxicos.

Para la estandarización de métodos para análisis de fósforo intercambiable en suelos, en primer lugar, se deben comparar los distintos métodos para obtener una muestra de prueba homogénea utilizando repeticiones de diez veces y calculando la desviación estándar, esto proporciona una medida de precisión. Luego, se debe agregar una cantidad conocida de reactivo a la muestra de prueba homogénea, repetir los procedimientos y calcular la desviación media y estándar. La concordancia entre el aumento de los valores obtenidos y el aumento conocido de la concentración de la muestra de prueba proporciona una prueba de precisión. Para los procedimientos en los que se sabe que el material de prueba interactúa con el reactivo agregado, como en suelos absorbentes de fósforo, es necesario realizar esta prueba con soluciones de reactivo (Okalebo et al., 2012).

1.3. Bases conceptuales

- **Fósforo asimilable**

Es la cantidad de fosforo soluble en agua y en una solución neutra de citrato de amonio, expresado convencionalmente en porcentaje de anhídrido fosfórico (INEN 231, 1977).

- **Métodos de extracción de fósforo en suelo.**

Son utilizados para evaluar el estado de P de los suelos e incluyen la extracción con agua, ácidos débiles, bases, sales y resina de intercambio aniónico. (López y Miñano, 2008, p.32).

- **Método Bray - Kurtz.**

Se basa en la extracción del P del suelo por medio de una solución de fluoruro de amonio en medio ácido, que agitada con el suelo durante un tiempo determinado solubiliza fósforo (Boschetti, 2012, p. 45).

- **Método Olsen**

El método se basa en la extracción de fosfato del suelo mediante una solución de bicarbonato de sodio 0,5 N ajustada a pH 8,5. En el proceso de extracción, el hidróxido y el bicarbonato desorben competitivamente el fosfato de las partículas del suelo y la absorción secundaria se minimiza debido al alto pH (Carrero, et al., 2015, p. 29-33).

- **Propiedades ándicas**

Propiedades químicas y físicas únicas que incluyen una alta capacidad de retención de agua y la capacidad de "fijar" grandes cantidades de fósforo (Meléndez y Soto, 2008).

- **Suelo andisol**

Estos suelos presentan una reducida disponibilidad de fósforo (P) y una acuciante retención de fosfatos, debida a la alta composición de materiales amorfos, como la imogolita, ferrihidrita, alófano y complejos órgano minerales de aluminio (Al) y hierro (Fe), que limitan el crecimiento vegetal (Dahlgren, et al., 1993: pp.101-143)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Tipo de Investigación

La presente investigación según el método utilizado es cuantitativa, dado que para el cumplimiento de los objetivos planteados, será necesario la recopilación de datos cuantificables y la realización de técnicas estadísticas, matemáticas o computacionales, además según el objetivo de investigación es aplicada, considerando que el fin del estudio es resolver un problema concreto relacionado a la obtención de resultados diferentes en dos métodos de cuantificación de fósforo asimilables presentes en el mismo suelo.

Según el nivel de profundización en el objeto de estudio, la misma se clasifica como exploratoria, motivado a que permitirá desarrollar, perfeccionar y probar herramientas y procedimientos de medición y los hallazgos obtenidos servirán para el desarrollo de estudios a futuro que impliquen otras áreas y otros tipos de suelo, además es descriptiva, debido a que el presente estudio describirá sistemáticamente un problema y los aspectos relevantes de la cuantificación de fósforo en suelo de tipo andisol. Finalmente, según la manipulación de variables, el presente estudio es de tipo no experimental, dado que está dirigido a evaluar la eficacia de un tratamiento y los sujetos de estudio (suelo) que están asignados aleatoriamente sin manipulación de variables.

2.2. Diseño de la Investigación

El presente estudio se clasifica como diseño no experimental.

2.3. Identificación de variables

2.3.1. *Variable Dependiente*

Concentración medida de fósforo asimilable.

2.3.2. *Variables Independiente*

Método de evaluación de fósforo asimilable (Olsen y Bray).

2.4. Localización del Estudio

El presente estudio se efectuó en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en el laboratorio del grupo de investigación GIDAC.

2.5. Población de estudio

La población de estudio corresponde a las muestras procesadas de andisoles del grupo de investigación y desarrollo para el ambiente y cambio climático GIDAC (aproximadamente 168 muestras).

2.6. Tamaño de la muestra

La muestra será determinada en base a la ecuación estadística de muestreo probabilístico en base a la cantidad de muestras obtenidas.

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Donde:

N= Tamaño de la población (168 muestras)

Z= Nivel de confianza (95%)

p= Probabilidad de éxito (0,5)

q= Probabilidad de fracaso (0,5)

d2=Precisión (3%)

$$n = \frac{168 * 1,96^2 * 0,5 * 0,5}{0,03^2 * (168 - 1) + 1,96^2 * 0,5 * 0,5} = 145,2 \text{ muestras}$$

Según los resultados, el tamaño muestral para el presente estudio corresponde a 145 muestras de suelo andisol para análisis por los métodos de Olsen y Bray.

2.7. Manejo de las muestras

Se deben observar ciertas consideraciones en el manejo de muestras, sin embargo, se deben seguir los procedimientos establecidos por el laboratorio con respecto a la recolección y almacenamiento de muestras para análisis.

- **Etiquetado**

Las etiquetas deben colocarse en un lugar visible y no exceder el tamaño del contenedor y adheridas correctamente para evitar pérdidas, la etiqueta debe contener al menos la siguiente información: número de identificación único, lugar de muestreo, nombre del proyecto, fecha y hora del muestreo, nombre de la empresa e iniciales del muestreador. Inmediatamente después del muestreo, debe llevarse a cabo el etiquetado y registro de la muestra.

- **Ficha de muestreo**

Documento que reúne la información recopilada en el campo, incluida la técnica de muestreo, la condición del punto de muestreo y la descripción de las muestras tomadas.

- **Condiciones de seguridad de las muestras**

Considere el pretratamiento in situ de la muestra, siguiendo algunas operaciones obligatorias como filtración, adición de reactivos, conservantes, etc. Los traslados de muestras deben realizarse con el cuidado necesario para evitar daños a las muestras, para ello deben ser empacadas para asegurar la completa inmovilidad de sus envases durante el transporte.

El uso de agentes químicos para conservar muestras de suelo debe evitarse siempre que sea posible, a menos que lo requiera la metodología. Para su conservación es conveniente mantenerlas en lugares frescos (4 a 6 °C). El volumen del recipiente debe ser igual al volumen de la muestra para minimizar el espacio libre (MINAM, 2017, p.72).

2.8. Técnicas de recolección de datos

Todas las muestras de suelo se extraerán de forma aleatoria y por duplicado con cada extractante. Para la extracción de fósforo del suelo se aplicarán dos procedimientos diferentes que se utilizan ampliamente: Método Bray-Kurtz y Olsen.

2.9. Materiales de Laboratorio

Los materiales utilizados se describen en la Tabla 1-2.

Tabla 1-2: Materiales de Laboratorio

EQUIPOS	REACTIVOS
Espectrofotómetro UV-visible Thermo Scientific Serie GENESYS 10S	Fluoruro de amonio: NH_4F
Agitador magnético	Ácido clorhídrico: HCl
pH-metro accumet AB150	Molibdato de amonio: $(NH_4)_6MO_7 \cdot O_{24} \cdot 4H_2O$
Balanza analítica OHAUS	Ácido sulfúrico: H_2SO_4
Micro pipeta de: 10 ml-5 ml-1 ml	Tartrato de antimonio y potasio: $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 H_2O$
Equipo de filtración con bomba de vacío	L-ácido ascórbico: $C_6H_8O_6$ Fosfato dihidrógeno de potasio: KH_2PO_4 Bicarbonato de sodio: $NaCO_3$
VIDRIERÍA	OTROS
Matraz aforado de: 10 ml-25 ml-50 ml-1000 ml	Papel filtro
Vasos precipitados de: 100ml-250ml-1000ml.	Piceta
Probetas graduadas de: 50 ml-100ml-1000 ml.	Tubos plásticos 50 ml con tapa
Frascos Ámbar	

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

2.10. Procedimiento Analítico

Al plantear el problema analítico, lo primero es seleccionar el método de análisis que nos brinde la información requerida, en este caso los métodos de análisis seleccionados (Bray-Kurtz y Olsen) se encuentran basados en el Manual de Análisis de suelos y tejido vegetal del Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1993.

2.10.1. Soluciones patrones para el desarrollo de color

Reactivos

- Molibdato de Amonio
- Tartrato de antimonio y potasio
- Ácido sulfúrico
- Ácido ascórbico

Solución A

1. Se disolvió 60 g de molibdato de amonio en 200 ml de agua.
2. Se añadió 1.455 g de tartrato de antimonio y potasio y se disolvió.
3. Se agregó lentamente y con agitación suave, 700 ml de ácido sulfúrico concentrado.
4. Se dejó enfriar y se diluyó con agua a un volumen de 1 l.

Solución B

1. Se disolvió 132 g de ácido ascórbico en agua y complete a un volumen de 1 l.

Se Guardó ambas soluciones en la nevera. Se preparó la solución de trabajo a partir de estas dos soluciones diariamente.

2.10.2. Solución patrón de fósforo:

Reactivos

1. Fosfato dihidrogenado de potasio

Solución patrón de 50 ugP.ml⁻¹

1. Se pesó 0.2195 g de KH₂PO₄. y se disolvió en agua.
2. Se completó a un volumen de 1 l con agua

Se guardó la solución en la nevera. Se hicieron los patrones de trabajo para todos los métodos a partir de esta solución.

2.10.3. Método Olsen

Para fines estratégicos y económicos del laboratorio se realizó algunas modificaciones, estos cambios se realizaron de acuerdo con la relación; suelo-extractante y solución filtrada-Aforo.

Reactivos

1. Hidróxido de sodio 1 M (NaOH)

2. Disuelva 40 g NaOH en 1 l de agua.
3. Bicarbonato de sodio 0.5 M (NaHCO_3) pH 8.50.
4. Se disolvió 42 g de NaHCO_3 en agua. Se diluyó a un volumen de 1 l con agua y con NaOH 1 M se ajustó el pH a 8.50. Se necesitó 30 ml de esta solución por cada muestra y 100 ml por cada estándar.
5. Ácido sulfúrico 2.5 M (H_2SO_4).
6. Se añadió 140 ml de H_2SO_4 concentrado a 600 ml de agua. Se dejó enfriar y se llevó a un volumen de 1 l. Se necesitó 1 ml por cada muestra y estándar.
7. Solución de trabajo para el desarrollo de color

La preparación de las soluciones patrones (A y B) está descrita en el punto 2.10.1. La solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente.

Se tomó 35 ml de solución A y se agregó 800 ml de agua. Se mezcló y se añadió 10 ml de solución B. se completó el volumen a 1 l con agua. Se necesitan 10 ml de esta solución por cada muestra y estándar.

Procedimiento

1. En un tubo con tapa (50 ml), se colocó 5 g de suelo y se agregó 30 ml de 0.5 M NaHCO_3 (pH 8.50).
2. Se agitó por 30 minutos a 200 rpm
3. Se filtró las muestras en tubos de ensayo.
4. Se tomó 5 ml de la solución filtrada o del patrón con una pipeta y se añadió 0.5 ml de H_2SO_4 (2.5 M).
5. Se agregó 10 ml de la solución de trabajo para el desarrollo de color con una pipeta y se esperó 15 minutos.
6. Se Calibró el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 880 nm usando absorbancia.
7. Se leyó las muestras con la concentración de fósforo en $\mu\text{g P g}^{-1}$ suelo.

2.10.4. Método Bray-Kurtz II

Reactivos

1. Solución de Bray II.
2. Ácido clorhídrico (HCl 0.1 M) y fluoruro de amonio (NH_4F 0.03 M).
3. Se disolvió 1.11 g de NH_4F en 16.64 ml de HCl 6 M y se completó el volumen a 1 l con agua.

Se necesitó 20 ml de esta solución por cada muestra.

4. Solución de trabajo para desarrollo de color.

La preparación de las soluciones patrones (A y B) es descrito en el punto 2.10.1 soluciones patrones para el desarrollo de color. la solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente. Se tomó 25 ml de la solución A y se agregó 800 ml de agua. Se mezcló y añadió 10 ml de la solución B. Se completó el volumen a 1 l con agua. Se necesitó 18 ml de esta solución por cada muestra y patrón.

Procedimiento

1. Se pesó 2.85 g de suelo en un vaso de 50 ml.
2. Se agregó 20 ml de la solución de Bray II.
3. Se agitó durante 40 segundos.
4. Se filtró la suspensión inmediatamente a través de papel filtro.
5. Se tomó 2 ml del extracto o de patrón y se añadió 18 ml de la solución de trabajo para desarrollo de color. Se mezcló y esperó 15 minutos para el desarrollo del color.
6. Se calibró el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 880 nm usando absorbancia.
7. Se leyó las muestras con la concentración de fósforo en la muestra en $\mu\text{g P g}^{-1}$ suelo.



Figura 3-2: Preparación de las soluciones

Realizado por: Vizúete, Nicole, 2022.

2.11. Determinación de la linealidad del sistema

Para el análisis de linealidad del sistema se realizó la curva de calibración para el espectrofotómetro, se prepararon disoluciones a partir del estándar (de 50 ppm). Para el método Bray- Kurtz, se utilizó concentraciones crecientes de fósforo en el rango 0-1-2-3-4-5-6-7-8-9-10 ppm. Para el método Olsen se midió niveles de concentraciones crecientes de 0-0,2-0,5-1-1,5-2-2,5-3-3,5 ppm estas diluciones fueron diluidas a 100 ml con la solución específica de cada método. Cabe recalcar que para la obtención de estos resultados se realizó varios ensayos previos. Se realizó 4 ensayos en diferentes días, obteniendo lecturas a una longitud de onda de 880 nm.

2.12. Linealidad del método

Se utilizó 6 muestras de suelos de diferentes niveles de concentración de fósforo (bajo, medio y alto), de cada una de las muestras se realizó 3 réplicas. Con los datos obtenidos se realizó el análisis estadístico determinando la ecuación de la recta de regresión, representación gráfica de la recta de regresión, coeficiente de correlación de Pearson, y análisis de varianza de la regresión.

2.13. Límite de cuantificación

Según el Centro Nacional de Metrología (2005), corresponde a la menor concentración o cantidad de analito de una muestra que puede ser determinada con aceptable precisión y exactitud. Al realizar mediciones a niveles bajos de un analito o una característica relacionada, es importante conocer la concentración más baja del analito o el valor de su propiedad asociada que se puede detectar con este método de manera confiable.

2.14. Análisis de costos

Se realizó la determinación de costos tomando en cuenta el costo de los reactivos utilizados, en donde los parámetros evaluados fueron: el costo de los reactivos y materiales y no se tomó en cuenta el personal, los ambientes y mantenimiento de los equipos.

2.15. Modelo Estadístico

Los resultados se evaluarán estadísticamente mediante un análisis descriptivo con la finalidad de organizar y clasificar los datos obtenidos mediante un programa estadístico. A demás se evaluó la normalidad de los datos y con el Test pareado de Wilcoxon se verificó la hipótesis.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de Resultados

3.1.1. Determinación de la linealidad del sistema

La Tabla 1-3, muestra los valores experimentales obtenidos de la absorbancia de cada concentración para cada uno de los métodos, con estos datos se realizó las gráficas de linealidad, una vez realizada las lecturas se descartó los datos anómalos, esto para valorar que los resultados corresponden a la misma población. Esta evaluación consiste en calcular un estadístico y compararlo con un valor tabulado esto para un 95% de confianza.

Tabla 1-3: Valores experimentales evaluados

NIVELES	MÉTODOS			
	BRAY-KURTZ		OLSEN	
	CONC.	ABS.	CONC.	ABS.
1	0	0	0	0
2	2	0.108	0.2	0.09
3	5	0.517	0.5	0.154
4	6	0.612	1.5	0.356
5	9	0.887	2.5	0.541
6	10	0.974	3	0.651

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

En las Gráficas 1-3 y 2-3, se ve la linealidad del sistema para los métodos Bray-Kurtz y Olsen.

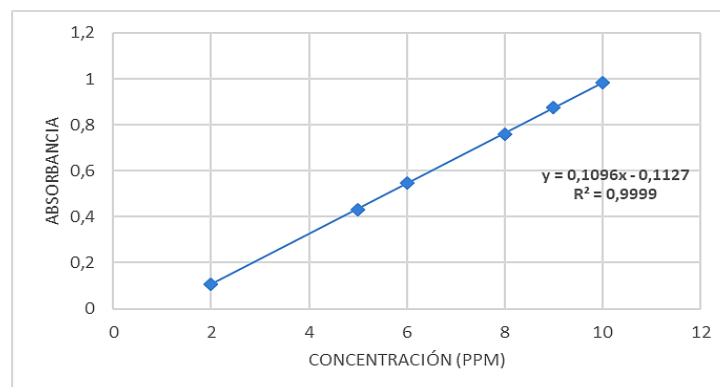


Gráfico 1-3: Linealidad del sistema método Bray-Kurtz

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

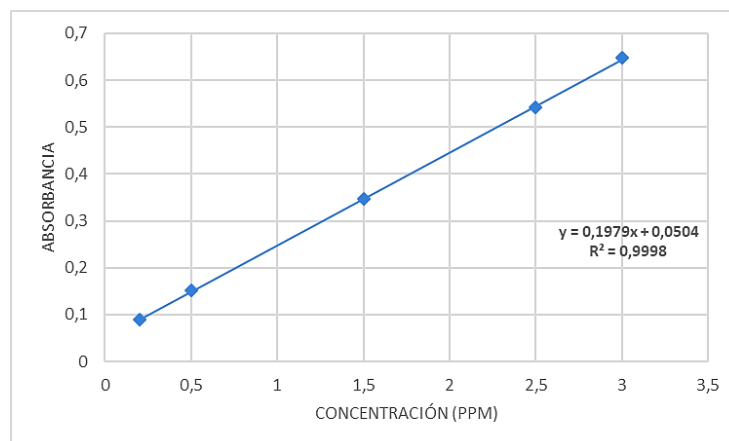


Gráfico 2-3: Linealidad del sistema método Olsen

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

La Tabla 2-3, muestra los resultados estadísticos del estudio de la linealidad del método Bray-Kurtz y Olsen.

Tabla 2-3: Resumen de los resultados estadísticos para la linealidad

PARÁMETROS	RESULTADOS	RESULTADOS	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
	MÉTODO BRAY-KURTZ	MÉTODO OLSEN	
Coefficiente de correlación (r)	0.9999	0.9999	$r \geq 0.9993$
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9999	0.9998	$r^2 \geq 0.9998$
Intercepto (a)	0.1127	0.0504	$a \neq 0$
Pendiente (b)	0.1096	0.1979	$a \neq 0$

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

Por los resultados mostrados en la Tabla 2-3, podemos mencionar que existe un grado alto de correlación entre la absorbancia (λ) y la concentración (ppm), cumpliendo de esa forma con la condición de proporcionalidad indicada por la Ley de Lamber Beer, además notamos que los indicadores de linealidad calculados cumplen con los criterios de aceptación establecido por la guía de validación (Eurachem, 2005), de esta manera indicamos que los métodos de Bray-Kurtz y Olsen dan resultados lineales para la determinación de P en el intervalo de 0 a 10 ppm para el método Bray-Kurtz y de 0 a 3 ppm para el método Olsen. Se dispone estas concentraciones para realizar la curva de calibración que se realizará en el espectrofotómetro antes de leer las muestras de suelo.

3.1.2. Linealidad del método

3.1.2.1. Método OLSEN

En la Tabla 3-3, se observa los datos promedio de absorbancias obtenidos en el análisis empleando las metodologías modificadas y realizando las lecturas a 880 nm. para cada uno de los suelos utilizados para este ensayo. En la Tabla 4-3, se observa los datos promedio de la concentración obtenidos en el análisis para cada uno de los suelos utilizados con este método.

Tabla 3-3: Valores estadísticos del conjunto longitud de onda del método Olsen.

Medida	Valor de absorbancia
Media	0.1673
Mediana	0.1500
Desviación estándar	0.0771
Mínimo	0.1020
Máximo	0.7860
Rango	0.6840
Kurtosis	4.7341
1er Cuartil	0.1310
3er Cuartil	0.1750

Realizado por: Vizquete, Nicole, 2022.

Tabla 4-3: Valores estadísticos del conjunto concentración del método Olsen.

Medida	Valor de Concentración de P (ppm)
Media	0.6396
Mediana	0.5370
Desviación estándar	0.4091
Mínimo	0.2500
Máximo	3.9230
Rango	3.6730
Kurtosis	4.7423
1er Cuartil	0.4520
3er Cuartil	0.6850

Realizado por: Vizquete, Nicole, 2022.

La Gráfica 3-3, muestra el diagrama de caja de los valores estadísticos obtenidos en el conjunto Longitud de onda con las muestras de suelos utilizadas para el método Olsen. La Gráfica 4-3,

muestra el diagrama de caja de los valores estadísticos obtenidos en el conjunto concentraciones con las muestras de suelos utilizadas para el método Olsen.

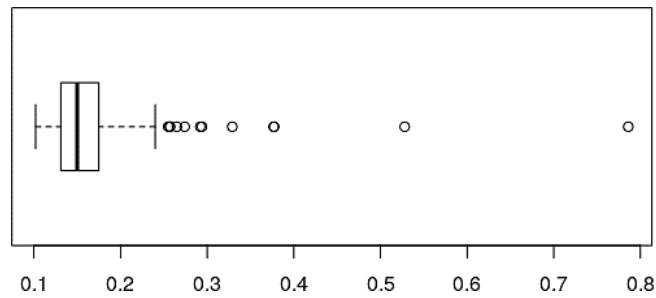


Gráfico 3-3: Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto Long. Onda (Método Olsen)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

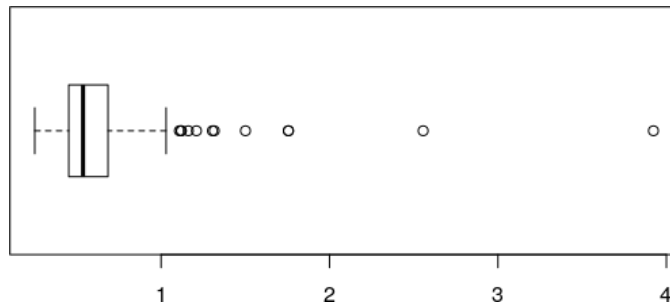


Gráfico 4-3: Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto PPM (Método Olsen)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

3.1.2.2. Método BRAY - KURTZ

En la Tabla 5-3, se observa los datos promedio de absorbancias obtenidos en el análisis empleando la metodología y realizando las lecturas a 880 nm, para cada uno de los suelos utilizados para este ensayo. En la Tabla 6-3, se observa los datos promedio de la concentración obtenidos en el análisis para cada uno de los suelos utilizados con este método.

Tabla 5-3: Valores estadísticos del conjunto absorbancia del método Bray-Kurtz

Medida	Valor
Media	0.3545
Mediana	0.2360
Desviación estándar	0.3079
Mínimo	0.1030
Máximo	1.1970
Rango	1.094
Kurtosis	1.7217
1er Cuartil	0.1678
3er Cuartil	0.4338

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

Tabla 6-3: Valores estadísticos del conjunto concentración del método Bray-Kurtz

Medida	Valor
Media	4.517
Mediana	3.354
Desviación estándar	3.3013
Mínimo	1.309
Máximo	13.290
Rango	11.981
Kurtosis	1.4988
1er Cuartil	2.141
3er Cuartil	5.471

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

La Gráfica 5-3, muestra el diagrama de caja de los valores estadísticos obtenidos en el conjunto Longitud de onda con las muestras de suelos utilizadas para el método Bray-Kurtz. La Gráfica 6-3, muestra el diagrama de caja de los valores estadísticos obtenidos en el conjunto concentraciones con las muestras de suelos utilizadas para el Bray-Kurtz.

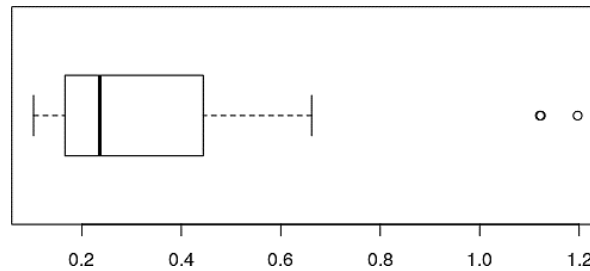


Gráfico 5-3: Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto Long. Onda (Método Bray-Kurtz)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

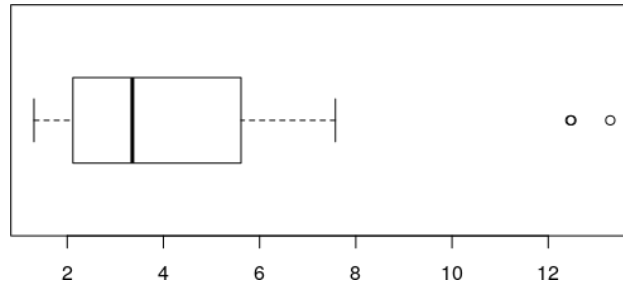


Gráfico 6-3: Boxplot de los valores estadísticos en el conjunto PPM (Método Bray-Kurtz)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

3.1.2.3. Correlación entre Absorbancia y Concentración

Por los resultados mostrados en la Gráfica 7-3 y 8-3, podemos mencionar que el Método Olsen y el Método Bray-Kurtz dan resultados linealmente proporcionales entre la absorbancia (λ) y concentración (ppm), cumpliendo de esta forma la proporcionalidad indicada por la Ley de Lamber Beer. También los indicadores de linealidad calculados cumplen con los criterios de aceptación establecido $r^2 \geq 0.9998$ por la guía de validación (Eurachem, 2005).

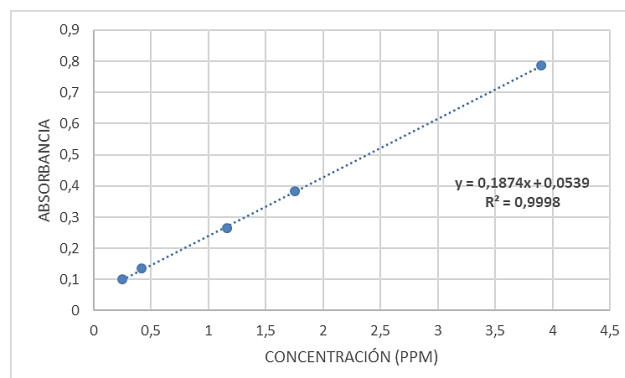


Gráfico 7-3: Correlación absorbancia-concentración Método Olsen

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

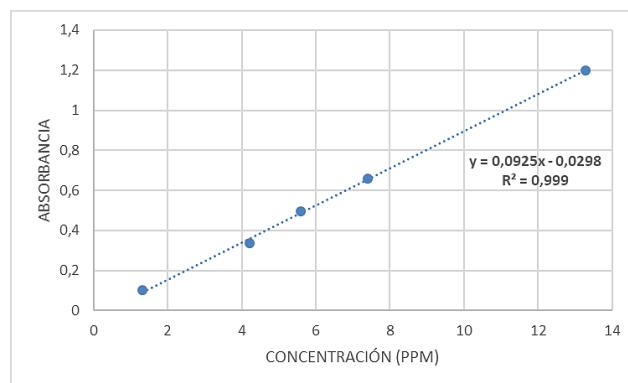


Gráfico 8-3: Correlación absorbancia-concentración

Método Bray-Kurtz

Realizado por: Vizuite, Nicole, 2022.

3.1.3. Análisis de las muestras de suelo

En la Tabla 7-3, se observan los niveles críticos obtenidos en el análisis de fósforo (P) empleando los métodos Olsen y Bray-Kurtz, en muestras de suelo. En ambos casos el fósforo, presenta una variación de 0.35 a 4.0 ppm con Olsen y una variación de 1.50 a 13.0 ppm, valores considerados de deficientes a muy altos, con algunos valores intermedios. De este modo se verifica que el análisis de suelo no predice adecuadamente el estado para diferentes tipos de suelos y se hace necesario determinar parámetros adicionales para predecir adecuadamente los requerimientos de P. A demás para diversos suelos se tiene diferentes niveles críticos de P en un mismo andisol. (Munera, 2012)

Tabla 7-3: Niveles críticos de Fósforo en el suelo de muestras de andisoles

NIVEL DE DISPONIBILIDAD	FÓSFORO (P) ppm
MUY BAJO	< 1.50
BAJO	1.50 – 3.00
MEDIO	3.00 – 5.00
ALTO	> 5.00

Realizado por: Vizuite, Nicole, 2022.

En las Tablas 8-3 y 9-3, se observan los datos obtenidos en el análisis de fósforo (P) en 30 muestras de suelo iguales empleando los métodos Olsen y Bray-Kurtz.

Tabla 8-3: Resumen estadístico para concentración empleando el método Olsen

Recuento	30
Promedio	0,541053 ± 0,12
Mediana	0,5870
Varianza	0,2011
Desviación Estándar	0,4091
Coficiente de Variación	92,8127%
Mínimo	0,2500
Máximo	3,9230
Rango	3,6730
Cuartil Inferior	0,4520
Cuartil Superior	0,6850

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

Tabla 9-3: Resumen estadístico para concentración empleando el método Bray-Kurtz

Recuento	30
Promedio	0,721767 ± 0,12
Mediana	4,517
Varianza	0,448754
Desviación Estándar	0,69891
Coficiente de Variación	73,0918%
Mínimo	0,298
Máximo	3,923
Rango	3,625
Cuartil Inferior	0,42
Cuartil Superior	0,706

Realizado por:

Vizuete, Nicole, 2022.

Los resultados del análisis de P disponible en las muestras de suelo mostraron diferencias, en las concentraciones de P disponible extraído por las soluciones de Bray-Kurtz y Olsen. En la Tabla 9-3 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). 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 extractante, 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.

3.1.3.1. Análisis de las muestras de suelo por zonas

En las Tablas 10-3, se muestra diferentes estadísticos de CONCENTRACION para cada uno de los 3 niveles de LUGAR. La intención principal del análisis de varianza de un factor es la de comparar las medias de los diferentes niveles. Se observa además una comparación entre zonas siendo el parámetro más importante para evaluar la efectividad el coeficiente de variación, teniendo un coeficiente de variación total de 116,049%, Siendo Atillo y Ozogoché los lugares con más variación (126,669% y 92,3697%) respectivamente en comparación con Yasipán. Según (Arizala, 2018: p.52) existe una alta variación debido principalmente al cambio de uso de suelo, el avance de la frontera agrícola y la actividad turística que se da en estos lugares.

Tabla 10-3: Comparación de las dos metodologías por zona

LUGAR	Recuento	Promedio	Mediana	Varianza	Desviación Estándar	
ATILLO	28	1,97161	1,2595	6,23706	2,49741	
OZOGOCHÉ	26	3,78265	3,055	12,2082	3,49403	
YASIPÁN	6	0,598667	0,582	0,00383347	0,061915	
Total	60	2,6191	1,4075	9,23826	3,03945	

LUGAR	Coefficiente de Variación	Error Estándar	Mínimo	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado
ATILLO	126,669%	0,471966	0,32	12,48	12,16	6,65576
OZOGOCHÉ	92,3697%	0,685235	0,298	13,29	12,992	2,89908
YASIPÁN	10,3421%	0,0252767	0,526	0,706	0,18	1,05388
Total	116,049%	0,392391	0,298	13,29	12,992	6,50863

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

En la Gráfica 9-3 se muestran los resultados de la comparación de los dos métodos Olsen y Bray-Kurtz por zonas representado en un box plot.

Gráfico Caja y Bigotes

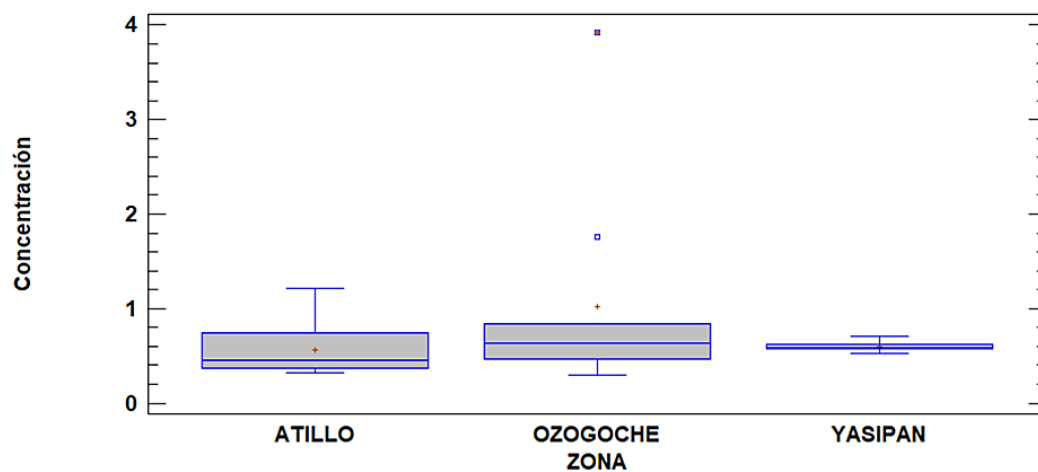


Gráfico 9-3: Concentración de Atillo, Ozogoche y Yasipán

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

3.1.3.2. Normalidad de los datos

Se analizó una normalidad de los datos ($n=100$) para verificar cuanto difiere la distribución de los datos observados respecto a una distribución normal. Se realizó el test con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Tabla 11-3: Normalidad de los Datos obtenidos Método Olsen

	Long. Onda	PPM
P-value	$2.2e - 16$	$2.2e - 16$

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

Tabla 12-3: Normalidad de los Datos obtenidos Método Bray-Kurtz

	Long. Onda	PPM
P-value	$4.777e - 06$	$8.034e - 05$

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

En las Gráficas 10-3 y 11-3 se muestran los resultados del test para absorbancia y concentración, concluyendo que los datos obtenidos por el Método Olsen no siguen una distribución normal: $P\text{-value} < \alpha$

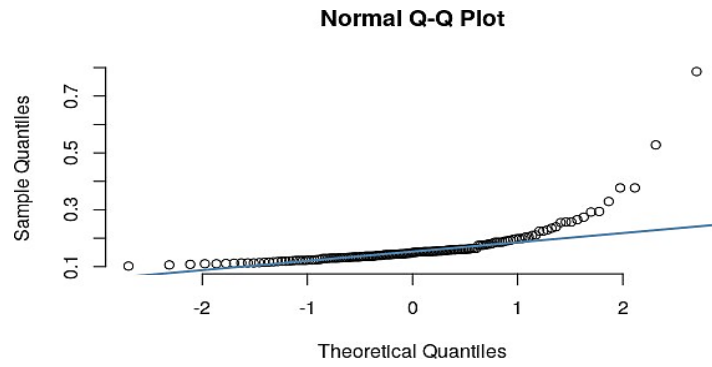


Gráfico 10-3: Normalidad de los datos Long. Onda (Método Olsen)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

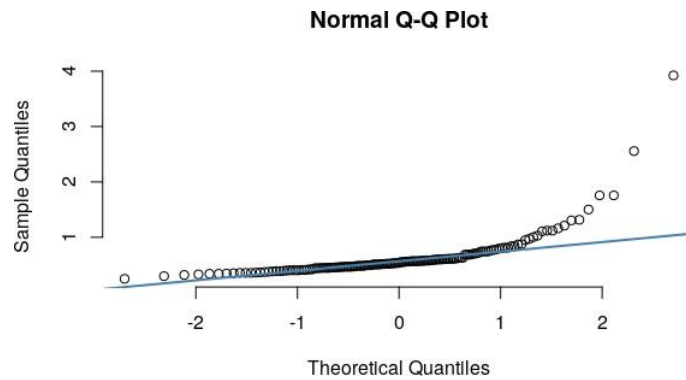


Gráfico 11-3: Normalidad de los datos PPM (Método Olsen)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

En la Gráfica 12-3 y 13-3 se muestran los resultados del test para absorbancia y concentración, concluyendo que los datos obtenidos por el Método Bray-Kurtz no siguen una distribución normal: $P\text{-value} < \alpha$.

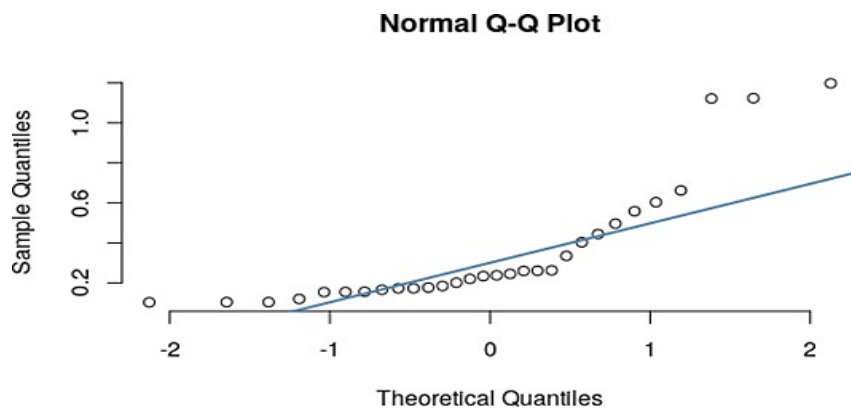


Gráfico 12-3: Normalidad de los datos Long. Onda (Método Bray-Kurtz)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

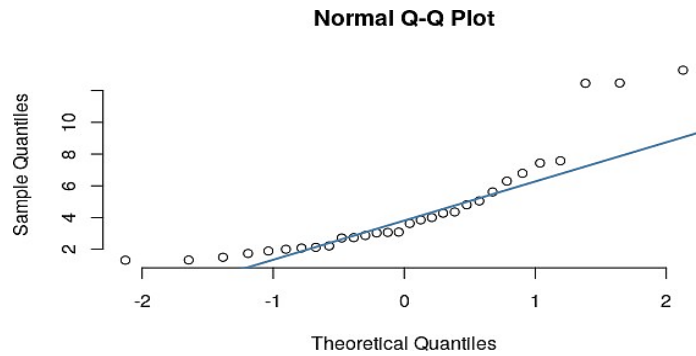


Gráfico 13-3: Normalidad de los datos PPM (Método Bray-Kurtz)

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

3.1.3.3. Test pareado de Wilcoxon

Como los datos no siguen una distribución normal y además de tienen pares ordenados por experimento, se utiliza el test de Wilcoxon que es una prueba no paramétrica para realizar la prueba de hipótesis con el 95% de confianza:

- $H_0 \rightarrow$ No existe diferencia significativa entre el método Olsen y el método Bray-Kurtz en la determinación de la concentración de fósforo asimilable.
- $H_1 \rightarrow$ Existe diferencia significativa entre el método Olsen y el método Bray-Kurtz en la determinación de la concentración de fósforo asimilable.

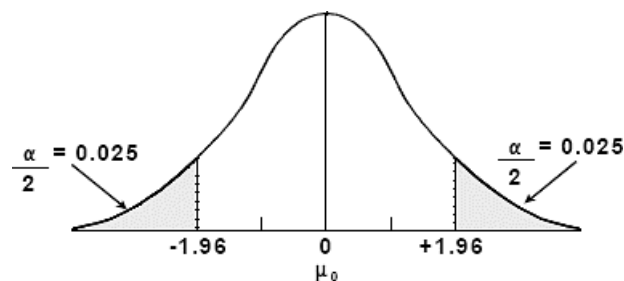


Gráfico 14-3: Test de Wilcoxon

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

Tabla 13-3: Datos obtenidos del test de Wilcoxon

Parámetro	Resultado
P-value	$< 2.2e - 16$
Pseudo-mediana	-0.4089

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

El P-valor $< \alpha$, lo cual indica que el estadístico de prueba se encuentra en las regiones extremas de la distribución. Por lo cual la hipótesis H_0 se rechaza, y por ende, la hipótesis H_1 queda verificada.

3.2. Costos

En las Tablas 14-3, se muestra los costos de los materiales para el método Bray-Kurtz para la metodología de 50ml, por cada 100 muestras se tiene un costo de 188.15 dólares. Por los datos obtenidos podemos decir que no es factible realizar el análisis para una sola muestra por la poca cantidad de reactivos que se usa, y el resto sería desechado determinando así que mínimo se debe realizar 20 muestras.

Tabla 14-3: Costo de reactivos método Bray-Kurtz

N.	Reactivos - materiales	Unidades	Cantidad	Precio (\$)	Cantidad/100 Muestras	Precio (\$)/ 100 Muestras
1	Ácido Ascórbico	g	500	32.00	264	16.90
2	Ácido sulfúrico	ml	4000	100.00	700	17.50
3	Molibdato de Amonio	g	500	512.00	120	122.88
4	Tartrato de potasio	g	500	102.00	9	1.84
5	Ácido Clorhídrico	ml	4000	125.00	340	10.63
6	Fluoruro de amonio	g	500	167.00	22.2	7.41
8	Papel filtro	caja	100	11.00	100	11.00
COSTO DE REACTIVO POR 100 MUESTRAS (\$)						188.15
TIEMPO DE ANÁLISIS PROMEDIO						20 min

Realizado por: Vizuete, Nicole, 2022.

En la Tabla 15-3, se muestra los costos de los materiales para el Olsen para la metodología de 50ml, por cada 100 muestras se tiene un costo de 212.51 dólares. Por los datos obtenidos podemos decir que no es factible realizar el análisis para una sola muestra por la poca cantidad de reactivos que se usarían, determinando así que mínimamente se debe realizar 20 muestras.

Tabla 15-3: Costo de reactivos método Olsen

N.	Reactivos - materiales	Unidades	Cantidad	Precio (\$)	Cantidad/100 Muestras	Precio (\$) / 100 Muestras
1	Ácido Ascórbico	g	500	32.00	264	16.90
2	Ácido sulfúrico	ml	4000	100.00	700	17.50
3	Molibdato de Amonio	g	500	512.00	120	122.88
4	Tartrato de potasio	g	500	102.00	9	1.84
5	Bicarbonato de Sodio	g	500	20.00	840	33.60
6	Hidróxido de sodio	g	500	110.00	40	8.80
8	papel filtro	caja	100	11.00	100	11.00
COSTO DE REACTIVO POR 100 MUESTRAS (\$)						212.51
TIEMPO DE ANÁLISIS PROMEDIO						50 min

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

3.3. Efectividad de métodos de análisis de Fosforo para la microcuenca del río Cebadas

Según (Rojas et al., 2018, pp.1-15) efectividad es el cumplimiento de lo programado o el grado de cumplimiento de los objetivos. Comparando los dos métodos utilizados para determinar suelo de tipo andisol de las muestras almacenadas en el Grupo de Investigación GIDAC, el método más efectivo por su eficacia; es decir los resultados alcanzados que cumplen los objetivos o los requisitos de calidad es el método Bray Kurtz mostrando un porcentaje de varianza menor de 73.09%. El método más eficiente que cumple con los objetivos, y además da un uso adecuado, racional u óptimo a los recursos utilizados en nuestro caso el tiempo 20 minutos por muestra también fue el método Bray-Kurtz. Por lo que el método mencionado es el más efectivo para la determinación de fosforo en andisoles, y es aceptado para su uso en el laboratorio del GIDAC.

Tabla 16-3: Efectividad.

EFFECTIVIDAD		
MÉTODO	EFICACIA	EFICIENCIA
OLSEN	92.81%	50 minutos por muestra
BRAY- KURTZ	73.09%	20 minutos por muestra

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

CONCLUSIONES

- Los resultados del análisis de P disponible en las muestras de suelo mostraron diferencias significativas en las concentraciones de P disponible extraído por las soluciones de Bray-Kurtz y Olsen. Se demuestra que la solución extractante Bray-Kurtz extrajo mayor cantidad de P (Promedio: 4.517 ppm de P) en comparación con Olsen (Promedio: 0.5370 ppm de P). Al comparar el porcentaje de varianza de los diferentes métodos, se observa que Bray-Kurtz presenta un porcentaje de varianza menor que Olsen, siendo este más preciso y con menos margen de error. De acuerdo con los resultados obtenidos, se tiene que el método de Bray-Kurtz es el más indicado a ser usado en el laboratorio GIDAC para suelos de tipo andisol. Afirmación que coincide con investigaciones similares en la determinación de P intercambiable en suelos andisoles.
- Los resultados de ambos métodos (Bray-Kurtz y Olsen), permite concluir que estos métodos analíticos para la cuantificación de P en suelos ácidos y básicos presentan resultados de linealidad del sistema, linealidad del método, que permiten obtener resultados seguros y confiables en la detección y cuantificación de P.
- Se estableció el protocolo de análisis de Fósforo en suelo de tipo andisol mediante el método Bray-Kurtz II, que constituye un procedimiento adecuado para llevar a cabo las actividades de laboratorio que asegura la aplicación del método de forma coherente cumpliendo con el desempeño requerido por los investigadores.
- Se evaluó la efectividad del método Bray-Kurtz para determinación de fósforo asimilable en Andisoles de la microcuenca del Río Cebadas, debido a una comparación de eficacia y eficiencia de los dos métodos, siendo este el más efectivo tomando en cuenta el requisito de calidad determinado por el porcentaje de varianza y el uso óptimo de tiempo y recursos.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la curva de calibrado cada vez que se vaya a realizar las lecturas de las muestras de suelo, y verificar que este tenga un coeficiente de correlación de 0,999 para tener datos proporcionales entre la absorbancia (λ) y concentración. Es conveniente realizar un control diario, al menos con dos puntos y un blanco, esto permite detectar errores, contaminaciones o alguna diferencia al momento de la lectura en el equipo.
- Una vez culminado el proceso de estandarización del método en el laboratorio se recomienda utilizar los datos obtenidos para realizar un monitoreo periódico, estableciendo parámetros para su control.
- Para evitar interferencias en los análisis de P, se recomienda lavar el material volumétrico (pipeta, matraces aforados, celdas de cuarzo, etc.), con detergente y dejarlos en *HCL* al 10 %.
- Profundizar esta investigación enfocándose en determinar fósforo usando un tipo de suelo básico para validar los dos métodos.

BIBLIOGRAFÍA

AIDE, M., AIDE, C., & BRADEN, I. "Soil Genesis of Histosols and Gelisols with a Emphasis on Soil Processes Supporting Carbon Sequestration". [en línea]. 2020. 94399, pp.1-9. doi:10.5772/intechopen.94399.

ARIZALA, Stalin. "Estudio de las condiciones ambientales del sistema lacustre de ozogoché, parque nacional sangay, previo a la declaratoria como sitio Ramsar". 2018 (Trabajo de titulación) (Tesis de grado. Ingeniero Forestal) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, (S.l.), p.52.

BALEMI, T., & NEGISHO, K. Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: a review [en línea]. 2012. J. Soil Sci. Plant Nutr., 12(3). pp. 547-561. doi:10.4067/S0718-95162012005000015.

BAYUELO, J., OCHOA, I., TORRES, E., & MURAOKA, T. Efecto del uso del suelo en las formas y disponibilidad de fósforo de un Andisol de la Meseta Purhépecha, Michoacán. Terra Latinoamericana [en línea]. 2019. 37(1), pp.1-7. <https://doi.org/10.28940/tl.v37i1.367>.

BOSCHETTI, Graciela. "Determinación de P extraíble en suelos por el método de Bray y Kurtz 1". 2012 (S.l.), p. 45.

BRAY, R., & KURTZ, L. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. Soil Science. 1945, 59 (1). pp. 39-45. doi:10.1097/00010694-194501000-00006.

BRAVO, I., MONTOYA, J., & MENJIVAR, J. Retención y disponibilidad de fósforo asociado a la materia orgánica en un Typic Melanudands del departamento del Cauca, Colombia [en línea]. 2013. Acta Agronómica, 62(3), pp. 261-267. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v62n3/v62n3a09.pdf>

BRETNALL A., & CLARKE G., Validation of analytical test methods, in Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis. 2011, Waltham, MA, USA: Academic Press (Elsevier).

CADE, B. Characterizing phosphorus forms in cropland soils with solution ³¹P-NMR: past studies and future research needs. Chem. Biol. Technol. Agric., [en línea]. 2019. 4(17). p.19. doi:10.1186/s40538-017-0098-4.

CARMO, M., and TORRENT, J. The Olsen P method as an agronomic and environmental test

for predicting phosphate release from acid soils [en línea]. 2007, Nutrient Cycling in Agroecosystems, 77(3), pp.285-287. doi:10.1007/s10705-006-9066-2.

CARRERO A., ZAMBRANO G., HERNÁNDEZ G., CONTRERAS B., MACHADO D., BIANCHI B., & VARELA, D. "Comparación de dos métodos de extracción de fósforo disponible en un suelo ácido.". *Avances en Química* [en línea]. 2015, vol. 10, (S.1.) pp. 29-33. ISSN 1856-5301. Disponible en: www.saber.ula.ve/avancesenquimica.

CHANNARAYAPPA, C., & BIRADAR, D. Soil Basics, Management and Rhizosphere Engineering for Sustainable Agriculture [Online]. 2018. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press. ISBN 9781138486928.

CUNALATA, C., & INGA, C. "Cuantificación de carbono total almacenado en suelos de páramos en las comunidades Shobol-Chimborazo, San Juan Chimborazo Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo". 2012. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Tesis de grado. Ingeniero en Biotecnología Ambiental) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, (S.1), p.19.

DAHLGREN, R., SHOJI, S., & NANZYU, M. Mineralogical characteristics of volcanic ash soils. 1993. In Developments in Soil Science. Volcanic ash soils. Genesis, properties, and utilization. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. Vol. 21. pp. 101-143.

EURACHEM/CITAC. Guide Traceability in Chemical Measurement. A guide to achieving comparable results in chemical measurement. 2005.

ELSER, James. Phosphorus: a limiting nutrient for humanity? [en línea]. 2012. Current Opinion in Biotechnology, 23, pp.833–838. Disponible en: http://elserlab.asu.edu/pdf/Elser_2012.pdf

ESPINOSA, Jesús. "Fijación de fosforo en suelos derivados de ceniza volcánica". Quito, Ecuador: Universidad Central de Ecuador. 2007. [en línea]. pp.5. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/237118666>.

FERNÁNDEZ, C., & MENDOZA, R. Evaluación del fósforo disponible mediante tres métodos en distintos suelos y manejos productivos. *CI. Suelo* [en línea], 2008 (Argentina), 26(1). Disponible en: http://www.suelos.org.ar/publicaciones/vol_26n1/Mend%20&%20%20L%F3pez%2026%201.pdf.

GALUSZKA, A., MIGASZEWSKI, Z., and NAMIEŚNIK, J., The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices [en línea]. 2013. Trends Anal. Chem, 50, pp.78-84. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>

HOLFORD, I. (1997). Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants [Online]. Australian Journal of Soil Research, 35. doi:20004-9573.

IATROU M., PAPADOPOULOS A., PAPADOPOULOS F., DICHALA O., PSOMA P. and BOUNTLA A. Determination of Soil Available Phosphorus using the Olsen and Mehlich 3 Methods for Greek Soils Having Variable Amounts of Calcium Carbonate [Online]. 2014, 45(16). Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00103624.2014.911304>.

INEN 231. "FERTILIZANTES DETERMINACION DEL FOSFORO ASIMILABLE (Método gravimétrico)". *Instituto Ecuatoriano de Normalizacion* [en línea]. (1977), (S.l.) . Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/231.pdf>.

JESCHKE, Marck. Phosphorus Behavior in Soil [en línea]. 2017. Crop Focus, pp.1-3. Disponible en: https://intelseed.ca/uploads/Phosphorus_Behavior_in_Soil-2017.pdf.

KHALEDIAN, Y., NORMAN, J., BREVIK, E., PEREIRA, P., and ZERAATPISHEH, M. Developing global pedotransfer functions to estimate available soil phosphorus. Science of The Total Environment [en línea]. 2018. 644, pp.1110-1116. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.394>

KVAKIC, Marko. To what extent does phosphorus limit agricultural production at the global scale: A process modelling based approach. 2019. Francia: Bordeaux University. pp.4-6.

KWESI, Samuel. Processes and Factors Affecting Phosphorus Sorption in Soils [en línea]. 2020. Intechopen, 90719, pp.1-8. doi:10.5772/intechopen.90719.

LLAMBÍ, L.D., et al. Páramos Andinos: Ecología, hidrología y suelos de páramos [en línea]. Quito-Ecuador: Condensan, 2012. pp. 22-24. [Consulta: 24 septiembre 2019]. ISBN 9789942115492. Disponible en: <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/56477.pdf>.

LOPEZ, Enrique; & MIÑANO, Fernando. "Metodos rapidos de analisis de suelos". *Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentacion*. (2008), (S.l.) pp. 32pp.

MELÉNDEZ, Gloria; & SOTO, Gabriela. "Taller de Abonos Orgánicos". *Soil Science Society of America Journal*. (2008), (S.1.) . ISSN 0718-3429. DOI 10.1023/A:1009738307837.

MINAM. "Guía para el muestreo de suelos". *Minam* [en línea]. 2014, (S.1.) p. 72. Disponible en: <https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELOS-final.pdf><http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2018/07/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELO.pdf>.

MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Política para la gestión sostenible del suelo. Bogotá, D.C., Colombia: Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. [en línea]. 2016. pp. 7-20. ISBN: 978-958-8901-24-4.

MIXQUITITLA, G; & VILLEGAS, O. "Importancia de los fosfatos y fosfitos en la nutrición de cultivos" *ACTA AGRÍCOLA Y PECUARIA*, 2 (3). pp. 56-58. ISSN 2448-7090.

MYERS R., SHARPLEY A., THIEN S. and PIERZYNSKI G. Ion-Sink phosphorus extraction methods applied on 24 soils from the continental USA [Online]. 2005. *Soil Sci. Soc. Am. Journal*, 69(2). doi:10.2136/sssaj2005.0511, pp. 86-96.

NAEEM, A., AKHTAR, M., & AHMAD, W. Optimizing Available Phosphorus in Calcareous Soils Fertilized with Diammonium Phosphate and Phosphoric Acid Using Freundlich Adsorption Isotherm [en línea]. 2014. *Scientific World Journal*, 680257, pp.1-6. doi:10.1155/2013/680257.

OKALEBO, R., GATHUA, W., & WOOMER, L. Laboratory methods of soil and plant analysis: A Working Manual. 2012. Segunda edición Nairobi: SACRED Africa.

PEREZ M., GUERRA L., STORNILO R., VANZOLINI J. and KLOSTER N. Comparación de métodos para determinación de fósforo extraíble en suelos de la región semiárida pampeana. [Online]. 2019. 37(1). Asociación Argentina Ciencia del Suelo. Disponible en: <http://www.suelos.org.ar/publicaciones/Volumen37n1/2-%20441%20WEB.pdf>.

PERIS, V., ESTEVE, J., & CARDA, S. Chapter 13 Validation of Analytical Methods Based on Chromatographic Techniques: An Overview. 2015. España: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9783527678129.assep064>.

PLAXTON, W., & LAMBERS, H. Phosphorus Metabolism in Plants. 2015. Australia: Wiley-Blackwell.

REYES, Edwin. Función de pedotransferencia mediante el método de las regresiones lineales múltiples, para determinar la microporosidad en función de propiedades físicas de fácil determinación [en línea]. 2018. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales Escuela de Ciencias Agrarias Programa Ingeniería Agronómica. Universidad de los Llanos. Disponible en:

<https://repositorio.unillanos.edu.co/bitstream/handle/001/1362/Funciones%20de%20Pedotransferencia%20para%20Determinar%20la%20Microporosidad%20de%20un%20Tipo%20de%20Haplodax%20Sometido....pdf?sequence=2&isAllowed=y>

ROJAS, M; JAIMES, L & VALENCIA, M. "Efectividad, eficacia y eficiencia en equipos de trabajo.". *Revista ESPACIOS*. vol. 39, no. 6 (2018), (S.l.) pp. 1-15.

SIGTIERRAS. Mapa de ordenes de suelos del Ecuador. Quito: Ministerio de Agricultura y Ganadería. 2010. p. 4.

SIMS, J., SIMARD, R., & JOERN, B. (1998). Phosphorus loss in agricultural drainage: Historical perspective and current research [Online]. *Journal Environ. Quality*, 27(2), 277-293. doi:10.2134/jeq1998.00472425002700020006x.

TURNER, B., CONDRON, L., RICHARDSON, S., PELTZER, D., & ALLISON, V., 2007. Soil organic phosphorus transformation during pedogenesis [Online]. 2007. *Ecosystems*, 10. pp. 1170. Disponible en: Doi: 10.1007/s10021-007-9086-z




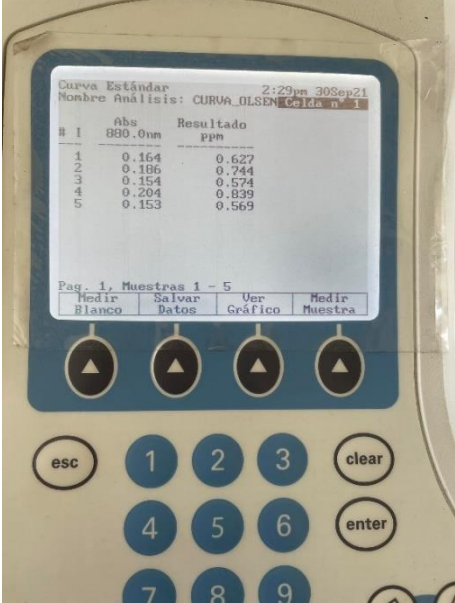
VALADARES, S., CROPPER, W., LIMA, J. LEITE, H., BARROS, N. & GERBER, S., Pedotransfer Functions to Estimate Parameters for Soil Phosphorus Models [en línea]. 2017. *Soil Science Society of America Journal*. 8(1). p.210. doi:10.2136/sssaj2016.06.

WANG, Y., ZHANG, T., O'HALLORAN, I., SPERANZINI, D. & PATTERSON, G. Agronomic and environmental soil phosphorus tests for predicting potential phosphorus loss from Ontario soils [en línea]. 2015. *Geoderma*, pp.60-68. doi:10.1016/j.geoderma.2014.11.001


DIRECCION DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACION
 Ing. Jonathan Parreno Guillón MBA
ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

ANEXOS

ANEXO A: FASE DE LABORATORIO

																																					
<p>Pesaje de las muestras</p>	<p>Filtrado de las muestras</p>																																				
	 <table border="1"><thead><tr><th colspan="2">Curva Estándar</th><th colspan="2">2:29pm 30Sep21</th></tr><tr><th colspan="4">Nombre Análisis: CURVA OLSEN</th></tr><tr><th>#</th><th>Abs</th><th>Resultado</th><th></th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>880.0nm</td><td>ppm</td><td></td></tr><tr><td>1</td><td>0.164</td><td>0.627</td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>0.186</td><td>0.744</td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>0.154</td><td>0.574</td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>0.204</td><td>0.839</td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>0.153</td><td>0.569</td><td></td></tr></tbody></table>	Curva Estándar		2:29pm 30Sep21		Nombre Análisis: CURVA OLSEN				#	Abs	Resultado		1	880.0nm	ppm		1	0.164	0.627		2	0.186	0.744		3	0.154	0.574		4	0.204	0.839		5	0.153	0.569	
Curva Estándar		2:29pm 30Sep21																																			
Nombre Análisis: CURVA OLSEN																																					
#	Abs	Resultado																																			
1	880.0nm	ppm																																			
1	0.164	0.627																																			
2	0.186	0.744																																			
3	0.154	0.574																																			
4	0.204	0.839																																			
5	0.153	0.569																																			
<p>Coloración</p>	<p>Lectura de las muestras</p>																																				

Realizado por: Vizueté, Nicole, 2022.

ANEXO B: PROTOCOLO DE DETERMINACIÓN DE FÓSFORO ASIMILABLE EN MUESTRAS DE SUELO

1. OBJETO

Definir un procedimiento para cuantificar fósforo (P) asimilable en muestras de suelo.

2. ALCANCE

El presente procedimiento es aplicado por el Laboratorio del Grupo de Investigación GIDAC para cuantificar P asimilable utilizando el extracto de suelo obtenido mediante los procedimientos: Olsen y Bray Kurtz II.

3. ITEMS A ENSAYAR

Suelos de las diferentes regiones del Ecuador

4. REFERENCIAS

4.1 Documentos utilizados en la elaboración

- Manual de análisis de suelos y tejido vegetal del laboratorio de Servicios Analíticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT.
- Procedimiento específico de ensayo determinación de fósforo asimilable en suelos método Olsen modificado de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi.

5. INTRODUCCIÓN

La principal razón para medir el P del suelo es evitar su deficiencia en la planta y predecir los requerimientos de fertilizantes.

El fósforo se encuentra en el suelo en formas orgánicas e inorgánicas. Se une a materia orgánica, arcilla y compuestos de Al, Fe y Ca. Para que la planta sea utilizable, el P debe estar presente en la solución del suelo. Los iones P presentes dependen del pH del suelo, pero los dos más comunes son H_2PO_4 y HPO_4 . El P sufre varias transformaciones en el suelo.

Existen muchos métodos para medir el fósforo (P) en el suelo. Cada categoría puede diferir en principio y procedimiento. Su selección depende del objetivo del estudio, la muestra y sus características, la presión requerida y las instalaciones del laboratorio.

Los presentes métodos cuantifican el fósforo asimilable mediante espectrofotometría, partiendo del extracto de suelo obtenido. El fósforo es determinado indirectamente por la formación de un complejo coloreado "azul de molibdeno" que se forma por la reacción del fósforo con solución sulfomolibdica en presencia de ácido ascórbico, mismo que se mide espectrofotométricamente mediante una curva de calibración elaborada con soluciones de fósforo de concentraciones conocidas.

6. NIVEL DE RIESGO Y CALIFICACIÓN

- Este procedimiento utiliza productos químicos peligrosos, como el ácido sulfúrico concentrado, para lo cual es indispensable el uso de equipo de protección personal completo (mandil, guantes de nitrilo, gafas, y la sorbona al manipular dicha sustancia.
- La preparación y manipulación de las soluciones “A” y “B” utilizadas en el ensayo se realizará con guantes.
- Al preparar el reactivo "A", la temperatura de la solución aumentará debido a la disolución del ácido sulfúrico concentrado. Para ello se debe controlar la temperatura.

7. DESCRIPCIÓN

7.1. Equipos, materiales y reactivos

7.1.1. Equipos

- Espectrofotómetro UV-visible Thermo Scientific Serie GENESYS 10S
- Agitador magnético
- pH-metro accumet AB150
- Balanza analítica OHAUS
- Micro pipeta de: 10 ml-5 ml-1 ml
- Equipo de filtración con bomba de vacío

7.1.2. Materiales

- Matraz aforado de: 10 ml-25 ml-50 ml-1000 ml
- Vasos precipitados de: 100ml-250ml-1000ml.
- Probetas graduadas de: 50 ml-100ml-1000 ml.
- Frascos Ámbar
- Papel filtro
- Piceta
- Tubos plásticos 50 ml con tapa

7.1.3. Reactivos

- Fluoruro de amonio: NH_4F
- Ácido clorhídrico: HCl
- Molibdato de amonio: $(NH_4)_6MO_7 \cdot O_{24} \cdot 4H_2O$
- Ácido sulfúrico: H_2SO_4
- Tartrato de antimonio y potasio: $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 H_2O$
- L-ácido ascórbico: $C_6H_8O_6$
- Fosfato dihidrógeno de potasio: KH_2PO_4
- Bicarbonato de sodio: $NaCO_3$

7.2. Condiciones ambientales

El método de referencia no establece condiciones ambientales específicas.

7.3. Preparación y Verificaciones previas

- Para evitar la contaminación cruzada, es imprescindible lavar a fondo los materiales de vidrio utilizados en el ensayo con un jabón sin fósforo, y luego secar en la estufa a 105°C.
- Para realizar esta prueba se debe utilizar agua tipo I, tanto para la preparación de la solución como para el análisis.
- Verifique las Instrucciones de uso del equipo mediante el Instructivo "Uso y Verificación de Equipo UV-Vis".

8. REALIZACIÓN

8.1 Soluciones patrones para el desarrollo de color

Solución A

1. Se disuelve 60 g de molibdato de amonio en 200 ml de agua.
2. Se añade 1.455 g de tartrato de antimonio y potasio y se disolvió.
3. Se agrega lentamente y con agitación suave, 700 ml de ácido sulfúrico concentrado.
4. Se deja enfriar y se diluye con agua a un volumen de 1 l.

NOTA: Esta solución es sensible al calor y a la luz, sin embargo, si es almacenada en un frasco ámbar y en refrigeración se conserva durante varios meses sin deteriorarse.

Solución B

1. Se disuelve 132 g de ácido ascórbico en agua y complete a un volumen de 1 l.

NOTA: El reactivo "B" es inestable y no se puede almacenar, por esta razón se prepara el mismo día del análisis para P.

8.2 Solución patrón de fósforo:

Solución patrón de 50 ugP.ml⁻¹

1. Se pesa 0.2195 g de KH₂PO₄. y se disolvió en agua.
2. Se completa a un volumen de 1 l con agua

Se guarda la solución en la nevera. Se hacen los patrones de trabajo para todos los métodos a partir de esta solución.

8.3 Método Olsen

Reactivos

1. Hidróxido de sodio 1 M (NaOH)
2. Disuelva 40 g NaOH en 1 l de agua.

3. Bicarbonato de sodio 0.5 M (NaHCO_3) pH 8.50.
4. Se disuelve 42 g de NaHCO_3 en agua. Se diluye a un volumen de 1 l con agua y con NaOH 1 M se ajusta el pH a 8.50. Se necesita 30 ml de esta solución por cada muestra y 100 ml por cada estándar.
5. Ácido sulfúrico 2.5 M (H_2SO_4).
6. Se añade 140 ml de H_2SO_4 concentrado a 600 ml de agua. Se deja enfriar y se lleva a un volumen de 1 l. Se necesita 1 ml por cada muestra y estándar.

Solución de trabajo para el desarrollo de color

1. La preparación de las soluciones patrones (A y B) está descrita en el punto 8.1. La solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente.
2. Se toma 35 ml de solución A y se agrega 800 ml de agua. Se mezcla y se añade 10 ml de solución B. se completa el volumen a 1 l con agua. Se necesitan 10 ml de esta solución por cada muestra y estándar.

Procedimiento

1. En un tubo con tapa (50 ml), se coloca 5 g de suelo y se agrega 30 ml de 0.5 M NaHCO_3 (pH 8.50).
2. Se agita por 30 minutos a 200 rpm
3. Se filtra las muestras en tubos de ensayo.
4. Se toma 5 ml de la solución filtrada o del patrón con una pipeta y se añade 0.5 ml de H_2SO_4 (2.5 M).
5. Se agrega 10 ml de la solución de trabajo para el desarrollo de color con una pipeta y se esperó 15 minutos.
6. Se Calibra el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 880 nm usando absorbancia.
7. Se lee las muestras con la concentración de fósforo en la muestra.

8.4 Método Bray-Kurtz II

Reactivos

1. Solución de Bray II.
2. Ácido clorhídrico (HCl 0.1 M) y fluoruro de amonio (NH_4F 0.03 M).
3. Se disuelve 1.11 g de NH_4F en 16.64 ml de HCl 6 M y se completa el volumen a 1 l con agua. Se necesita 20 ml de esta solución por cada muestra.

Solución de trabajo para desarrollo de color.

1. La preparación de las soluciones patrones (A y B) es descrito en el punto 8.1 soluciones patrones para el desarrollo de color. la solución de trabajo tiene que ser preparada diariamente.
2. Se toma 25 ml de la solución A y se agrega 800 ml de agua. Se mezcla y añade 10 ml de la solución B. Se completa el volumen a 1 l con agua. Se necesita 18 ml de esta solución por cada muestra y patrón.

Procedimiento

1. Se pesa 2.85 g de suelo en un vaso de 50 ml.
2. Se agrega 20 ml de la solución de Bray II.
3. Se agita durante 40 segundos.
4. Se filtra la suspensión inmediatamente a través de papel filtro.
5. Se toma 2 ml del extracto o de patrón y se añadió 18 ml de la solución de trabajo para desarrollo de color. Se mezcla y espera 15 minutos para el desarrollo del color.
6. Se calibra el espectrofotómetro con los patrones a una longitud de onda de 880 nm usando absorbancia.
7. Se lee las muestras con la concentración de fósforo en la muestra.

9. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Los controles de calidad del método se realizan utilizando la siguiente actividad:

- Curva de calibración.

10. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN O RECHAZO DE LOS RESULTADOS

Los criterios de aceptación y rechazo del aseguramiento de calidad se describen en la siguiente tabla:

Actividad	Criterio de aceptación y rechazo	Acción si no cumple	Frecuencia
Curva de calibración	$R2 \geq 0,998$	Quitar un punto de calibración hasta que la curva se ajuste y mínimo con 3 puntos de calibración, si no cumple volver a calibrar.	Cada grupo de análisis

11. ANEXOS

11.1 Anexo I. Cuadro de Interpretación del P.

PARÁMETRO	FÓSFORO (P) ppm
MUY BAJO	< 1.50
BAJO	1.50 – 3.00
MEDIO	3.00 – 5.00
ALTO	> 5.00



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

*UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL*

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 18/05/2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Nicole Esthefania Vizquete Altamirano</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Ingeniería en Biotecnología Ambiental</i>
Título a optar: <i>Ingeniera en Biotecnología Ambiental</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

0898-DBRA-UTP-2022