PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA AGRÍCOLA
PRODUCTOS ORGÁNICOS USADOS COMO ABONOS O FERTILIZANTES Y ENMIENDAS DE SUELO

NORMA TÉCNICA COLOMBIANA 5167
Editada 2004 – 06 - 15

1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los requisitos que deben cumplir y los ensayos a los cuales deben ser sometidos los productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y como enmiendas de suelo.

2. DEFINICIONES

Para efectos de la presente norma se aplican las definiciones consignadas en la NTC 1927.

3. CONDICIONES REQUISITOS

3.1 REQUISITOS GENERALES

3.1.1 *Los productos deben presentarse en forma sólida como granulados, polvos o agregados o líquida como concentrados solubles, suspensiones o dispersiones.*

3.1.2 *Todo producto cuyo origen sea materia orgánica fresca debe ser sometido a procesos de transformación que aseguren su estabilización agronómica tales como: compostaje o fermentación.*

3.1.3 *Deberá declararse el origen (clase y procedencia) de las materias primas y los procesos de transformación empleados.*

3.2.4 REQUISITOS ESPECÍFICOS

3.2.1 *Los productos orgánicos empleados como fertilizantes o abonos y enmiendas del suelo, deben cumplir con los requisitos establecidos en la Tabla 1.*

Tabla 1. Requisitos específicos

Fertilizantes o abonos orgánicos, orgánico minerales y enmiendas orgánicas			
Fertilizantes o abonos orgánicos.			
Clasificación del producto	Indicaciones relacionadas con la obtención y los componentes principales	Parámetros a caracterizar	Parámetros a garantizar (en base húmeda)
1	**2**	**3**	**4**
Abono orgánico	Producto sólido obtenido a partir de la estabilización de residuos de animales, vegetales o residuos sólidos urbanos (separados en la fuente) o mezcla de los anteriores, que contiene porcentajes mínimos de materia orgánica expresada como carbono orgánico oxidable total y los parámetros que se indican.	* Pérdidas por volatilización % * Contenido de cenizas máximo 60% * Contenido de humedad: - Para materiales de origen animal, máximo 20% - Para materiales de origen vegetal, máximo 35% - Para mezclas, el contenido de humedad estará dado por el origen del material predominante. * Contenido de carbono orgánico oxidable total mínimo 15%. * N1P2O5 Y K2O totales (declararlos si cada uno es mayor de 1%) * Relación C/N * Capacidad de intercambio catiónico, mínimo 30 cmol(+) Kg (meq/100g) * Capacidad de retención de humedad, mínimo su propio peso. * pH mayor de 4 y menor de 9 * Densidad máximo 0,6 g/cm3 * Límites máximos en mg/Kg (ppm)) de los metales pesados expresados a continuación. Arsénico (As) 41 Cadmio (Cd) 39 Cromo (Cr) 1 200 Mercurio (Hg) 17 Niquel (Ni) 420 Plomo (Pb) 300 * Se indicará la materia prima de la cual procede el producto.	Contenido de carbonoorgánico oxidable total (%C) Humedad máxima (%) Contenido de Cenizas (%) Capacidad de intercambio catiónico (cmol(+)Kg-1) (meq/100g) Capacidad de Retención de Humedad (%) pH Contenido de Nitrogeno Total (%N) Densidad (g/cm3)
		* La suma de estos parámetros debe ser 100	

Fertilizantes o abonos orgánico - minerales			
Clasificación del producto	Indicaciones relacionadas con la obtención y los componentes principales	Parámetros a caracterizar	Parámetros a garantizar (en base húmeda)
1	**2**	**3**	**4**
abono orgánico mineral sólido	Producto sólido obtenido por mezcla o combinación de abonos mineralesx y orgánicos de origen animal, vegetal, pedogenético (geológico) o provenientes de lodos de tratamiento de aguas residuales, que contiene porcentajes mínimos de materia orgánica expresada como carbono orgánico oxidable total y de los parámetros que se indican.	* Pérdidas por volatilización %* * Contenido de cenizas %* * Contenido de humedad, máximo15%* * Contenido de carbono orgánico oxidable total, mayor de 5% y menor de 15% * N1P2O5, K2O, CaO, MgO, elementos menores, reportar si la riqueza total de cada elemento mínimo es 2% * La suma de los elementos a reportar debe ser mínimo 10% * Densidad, reportar * pH, reportar * Residuo insoluble en ácido, máximo 50% del contenido de cenizas * Contenido de sodio, reportar * Conductividad eléctrica, reportar * Límites máximos en mg/Kg (ppm) de los metales pesados expresados a continuación (sólo para productos de mezcla con residuos de plantas de tratamiento de aguas residuales): Arsénico (As) 41 Cadmio (Cd) 39 Cromo (Cr) 1 200 Mercurio (Hg) 17 Niquel (Ni) 420 Plomo (Pb) 300 *Se indicará la materia prima de la cual procede el producto.	Contenido de carbono orgánico oxidable total (%C) Humedad máxima (%) Contenido total de Nitrógeno (%Nt) El Nitrógeno se expresará en forma orgánica y mineral N org N-NH4+ y N-NO3- Contenido de potasio total (%K2O) Contenido de potasio soluble (%K2O) Contenido de Fósforo total (%P2O5) Contenido de Fósforo soluble (%P2O5) **CONTENIDO DE CALCIO (%CAO)** Contenido de Magnesio (%MgO) Contenido de elementos menores (%) Densidad (g/cm3) Contenido de metales pesados (mg/kg) (ppm) Residuo insoluble (%)

Fertilizantes o abonos orgánico - minerales			
Clasificación del producto	Indicaciones relacionadas con la obtención y los componentes principales	Parámetros a caracterizar	Parámetros a garantizar (en base húmeda)
1	**2**	**3**	**4**
abono orgánico mineral líquido	Producto líquido obtenido por adición de agua a un abono orgánico, orgánico mineral sólido o mezcla de los anteriores, con posterior extracción al que puede o no, añadirsele un fertilizante mineral y que cumple con los parámetros que se indican.	* Sólidos suspendidos máximo 4%* * Contenido de Carbono Orgánico Oxidable total mínimo 20 g/l * N total + P2O5 + K2O1, mínimo 40 g/l * Riqueza máxima potasio 50 g/l de K2O * CaO y MgO reportar en g/l * Elementos menores, reportar en g/l * Contenido de sodio,reportar * Densidad, reportar * pH, reportar * Conductividad eléctrica, reportar Límites máximos en mg/l (ppm) de los metales pesados (sólo para productos de mezcla con residuos de plantas de tratamiento de aguas residuales o residuos sólidos urbanos separados en la fuente): Arsénico (As) 41 Cadmio (Cd) 39 Cromo (Cr) 1 200 Mercurio (Hg) 17 Niquel (Ni) 420 Plomo (Pb) 300 *Se indicará la materia prima de la cual procede el producto.	Sólidos suspendidos (%) Contenido orgánico oxidable total (g/l) Contenido total de Nitrógeno (%Nt) El Nitrógeno se expresará en forma orgánica y mineral N org N-NH4+ y N-NO3- Contenido de potasio (g/l K2O) Contenido de Fósforo (g/l P2O5) Contenido de Fósforo soluble (%P2O5) Contenido de metales pesados (mg/l) (ppm)

Enmiendas Orgánicas			
Enmienda orgánica Húmica			
Clasificación del producto	Indicaciones relacionadas con la obtención y los componentes principales	Parámetros a caracterizar	Parámetros a garantizar
1	2	3	4
Enmienda húmica sólida	Producto sólido obtenido a partir de la estabilización de residuos de animales, vegetales o residuos sólidos urbanos (separados en la fuente) o mezcla de los anteriores, que contiene porcentajes mínimos de materia orgánica expresada como carbono orgánico oxidable total y los parámetros que se indican.	* Si el producto no tiene tratamiento químico debe ser insoluble en agua y su disolución en medio alcalino debe ser mínimo el 50% en peso. * Si el producto tiene tratamiento químico debe ser soluble en agua y la y la disolución en agua debe desarrollar pH alcalino. * Contenido de carbono orgánico oxidable total, mínimo 30% * Extracto húmico total expresado como carbono (carbono total soluble en medio alcalino). Mínimo 30% del Carbono orgánico oxidable Total. * Carbono de ácidos húmicos. Mínimo el 60% del carbono del extracto húmico total. * Nitrógeno orgánico, reportar % * Humedad máxima: 20% * Granulometría: tamaño de partícula , reportar * Indicar el origen del cual procede el producto.	Carbono orgánico oxidable total %C Carbono del extracto Húmico total %CEHT Carbono de ácidos Húmicos %CAH (%CAH/ % CEHT) x 100 > % 60 Humedad máxima % Solubilidad en medio alcalino %
Enmienda húmica líquida	Producto orgánico líquido obtenido mediante solubilización en medio alcalino o por oxidación química, de un material de origen pedogenético que aporta ácidos húmicos y fúlvicos, destinado preferentemente a la fertirrigación y que cumple con las especificaciones que se indican.	* Extracto húmico total expresado como carbono del extracto húmico (Carbono orgánico oxidable total soluble en medio alcalino), mínimo 40g/l * Carbono del extracto húmico total mínimo el 30% del peso de sustancias solubles en medio alcalino. * Carbono de ácidos húmicos mínimo el 60% del carbono del extracto húmico total. * Carbono de ácidos fúlvicos % (declararlos) * Ausencia de sólidos suspendidos * pH mínimo 9 * Contenido de potasio (como KOH) Máx. 50g/l * Contenido de fósforo y otros elementos, reportar g/l * Densidad, reportar * Se indicará la materia prima de la cual procede el producto.	Carbono del extracto húmico total CEHT g/l CEHT (g/l) /peso de sustancias solubles en medio Alcalino > %30 Carbono de ácidos húmicos CAH g/l (CAH(g/l) / CEHT(g/l)) x 100 > %60 Carbono de ácidos fúlvicos CAF g/l Potasio (KOH) Máx 50 g/l

Enmienda orgánica no húmica			
Clasificación del producto	Indicaciones relacionadas con la obtención y los componentes principales	Parámetros a caracterizar y otros requisitos	Parámetros a garantizar
1	2	3	4
Enmienda Orgánica no húmica	Producto orgánico sólido obtenido a partir de la deshidratación y estabilización de los residuos provenientes de las plantas industriales y de tratamiento de a) aguas residuales industriales y urbanas y b) residuos sólidos urbanos separados en la fuente.	* Si el producto se disuelve en agua, su disolución no debe desarrollar pH alcalino. * Contenido de carbono orgánico oxidable total, mínimo 15% * Capacidad de intercambio catiónico, mínimo 30cmol(+) kg-1 (meq/100g) * Conductividad eléctrica, declararla * Contenido de sodio soluble (declararlo, restricciones de uso) * Límites máximos en mg/kg (ppm) de metales pesados (en base seca): Arsénico (As) 41 Cadmio (Cd) 39 Cromo (Cr) 1 200 Mercurio (Hg) 17 Niquel (Ni) 420 Plomo (Pb) 300 * Se indicará la materia prima de la cual procede el producto.	Contenido de carbono orgánico oxidable total %C Capacidad de intercambio catiónico Cmol (+) kg-1 (meq/100g) Contenido de metales pesados mg/kg

3.2.2 Macrocontaminantes

En la siguiente tabla se presentan los límites máximos permitidos para macrocontaminantes presentes en productos sólidos.

Macrocontaminantes	Límite (% en ms)
Plástico, metal, caucho > 2mm	< 0,2
Vidrio > 2mm	< 0,02
Piedras > 5mm	< 2
Vidrio > 16mm detección (si/no)	no

3.2.3 Niveles máximos de patógenos

Los fertilizantes y acondicionadores orgánicos de origen no pedogenético, deberán acreditar demostrar que no superan los siguientes niveles máximos de microorganismos patógenos:

***Salmonella sp: ausente** en 25 g de producto final.*

Enterobacterias totales: menos de 1000 UFC/g de producto final.

Además si alguna de las materias primas es de origen vegetal, deberán estar exentos de fitopatógenos de los géneros: Fusarium spp; Botrytis sp; Rhizoctonia sp; Phytophthora sp. Y de nemátodos fitopatógenos.

De igual manera deberá garantizar la sanidad del material, en relación con fitopatógenos específicos que pudieren estar presentes por el origen de las materias primas; por ejemplo: Los subproductos de rechazo de la industria bananera deben estar libres de Pseudomonas solanacearum Cepa II y Micosphaerella fijiensis.

3.2.4 Carga microbiana

Puede si el producto presenta contenidos de microorganismos benéficos, debe declararse el recuento de microorganismos mesoófilos aerobios, mohos y levaduras.

4. TOMA DE MUESTRAS Y CRITERIO DE ACEPTACIÓN O DE RECHAZO

4.1 TOMA DE MUESTRAS

Se efectuará de acuerdo con lo indicado en las NTC-ISO 8633, NTC-ISO 8634 Y NTC 3795, en la NTC 46.

4.2 CRITERIO DE ACEPTACIÓN O RECHAZO

Si la muestra no cumple con uno o más de los requisitos indicados en esta norma, será rechazado el lote. En caso de discrepancia, se tendrán que repetir los ensayos sobre la muestra reservada para tales efectos. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote.

5. MÉTODOS DE ENSAYO

5.1 MÉTODOS FISICOQUÍMICOS

Los métodos de análisis fisicoquímicos del componente orgánico, de los productos clasificados como orgánicos, se basan en su mayoría en metodologías de análisis de suelos y de material vegetal. La razón de esto, es que dichos materiales o bien son de aplicación directa al suelo o bien son de uso como sustratos para siembra directa. En consecuencia los resultados de los parámetros evaluados son comparables y compatibles con los de suelos específicamente en lo relacionado con los aspectos de salinidad y de comportamiento del material orgánico.

5.1.1 Preparación de la muestra y cuantificación de la humedad

La preparación de las muestras de los productos orgánicos, involucra la cuantificación de la humedad, por cuanto todos los métodos se desarrollan sobre la muestra seca, molida y tamizada. Si bien todos los métodos de ensayo fisicoquímicos se realizan sobre la muestra seca, los resultados deberán expresarse en base húmeda.

5.1.1.1 Equipos y materiales

- *Estufa de secado*
- *Molino*
- *Tamiz N° 35 ASTM (0.5 mm)*
- *Cuarteador*
- *Recipientes para secado en estufa de aproximadamente 400 ml*
- *Balanza (con precisión de 0.01g)*
- *Desecador*

5.1.1.2 Procedimiento

- *Se cuartea la muestra original*
- *Se pesa en el recipiente vacío en el cual se cuantificará la humedad.*
- *Se pesa en el recipiente una cantidad de muestra suficiente como para recolectar 300 g de material seco. (Si es necesario se coloca la misma muestra en dos recipientes)*

- *Lleve el recipiente a la estufa de secado y manténgalo a 70 °C durante 24h.*
- *Se saca de la estufa, se deja enfriar dentro de un desecador hasta peso constante.*
- *Se pesa*
- *Se muele el material en el molino*
- *Se tamiza (tamiz N°. 35 ASTM (05. mm).*
- *Se empaca la muestra en recipientes debidamente rotulados.*

5.1.1.3 Cálculos

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{peso muestra húmeda – peso muestra seca}}{\text{Peso muestra húmeda}} \times 100$$

5.1.2 Cuantificación de la densidad real en productos orgánicos

5.1.2.1 Principio del método

El método se basa en la cuantificación de la masa de producto que se deposita libremente por unidad de volumen, en un recipiente de volumen conocido.

5.1.2.2 Equipo y materiales

- *Balanza (con precisión de 0.01 g)*
- *Probeta de vidrio de 50 cm3 de capacidad*
- *Embudo*
- *Soporte universal*
- *Pinzas para soporte o aro de hierro*

5.1.2.3 Procedimiento

- *Pese la probeta vacía, limpia y seca. Tare la balanza*
- *Se deja caer libremente una cantidad de material (preparado como se indica en el numeral 5.1.1) suficiente para obtener una lectura cercana a 30 cm3. Registre el volumen ocupado por el material*
- *Se determina el peso de la probeta con el material*
- *Se realizan tres determinaciones sobre muestras diferentes*

5.1.2.4 Cálculos

La densidad del producto se expresa en g/cm3 y se calcula según la ecuación:

$$\text{Densidad real} = \left[\frac{W2 - W1}{V} \right]$$

En donde

W1 = peso en g de la probeta vacía

W2 = peso en g de la probeta con el material
V = volumen ocupado por el material en la probeta, expresado en cm3

El resultado será el promedio de las tres determinaciones.

5.1.3 Cuantificación de la capacidad de retención de agua pH y conductividad eléctrica en un producto orgánico.

5.1.3.1 Principio del método

El método utilizado para evaluar el pH y la conductividad eléctrica de un producto orgánico, es el mismo empleado para la caracterización de la salinidad en suelos, esto es en pasta de saturación. Esta método permite tener resultados comparables entre los laboratorios, a la vez que aporta información muy cercan a la realidad, puesto que sólo tiene la influencia del medio acuoso, situación semejante al comportamiento del material al entrar en contacto con el suelo. Sobre el mismo método de análisis es posible obtener información acerca de la capacidad de retención de agua del material (porcentaje de saturación).

A su vez el pH se puede determinar utilizando una relación material orgánico agua, 1:10.

5.1.3.2 Equipos y materiales

- *Recipiente de plástico de boca ancha.*
- *Espátula de madera*
- *Papel de filtro cualitativo de filtración rápida tipo S&S 595 u otro equivalente.*
- *Probeta de 100 ml*
- *Potenciómetro con electrodo de vidrio*
- *Conductímetro*
- *Erlenmeyer con desprendimiento lateral para filtración al vacío*
- *Recipiente para recolectar el filtrado*
- *Embudo Buchner para vacío*
- *Bomba de vacío*

5.1.3.3 Procedimiento

5.1.3.3.1 Procedimiento para determinar la capacidad de retención de agua

- *Pese aproximadamente 100 g de material preparado como se indica en el numeral 5.1.1, colóquelos en el recipiente plástico. Añada pequeños volúmenes de agua destilada o desmineralizada (utilizando una probeta).*

- *Se agita continuamente con la espátula de madera, esto con el fin de eliminar aire y formar poco a poco una masa. De vez en cuando se debe consolidar la muestra golpeando el recipiente suavemente sobre la superficie de trabajo.*

- *Se adiciona agua hasta llegar a un punto de equilibrio (punto de saturación) cuya evidencia está dada por un contenido de agua suficiente que refleja un brillo metálico sobre la superficie, estado en el cual no absorbe más agua ni la*

escurre, aunque habrá un poco de agua libre que asciende a la superficie cuando se deja en reposo.

- *Se registra el volumen de agua utilizado. También es posible pesar la totalidad del producto sólido con el agua a punto de saturación.*

- *Se deja en reposo durante 2 h.*

- *La pasta no debe acumular agua en la superficie, perder su brillo o endurecerse durante el reposo. Si la pasta es demasiado húmeda se debe se debe agregar más material, registrando el peso adicional, o si es demasiado dura o se ha perdido el brillo se agrega más agua mezclando nuevamente, registrando el volumen de agua añadido.*

5.1.3.3.2 Procedimiento para medir el pH

- *Se calibra el potenciómetro con las soluciones reguladoras de pH 7.0 y pH 4.0 (soluciones buffer)*
- *Se introduce el electrodo de vidrio en la pasta saturada y se registra la lectura.*

5.1.3.3.3 Procedimiento para medir la conductividad eléctrica

- *La separación del extracto. Se transfiere la pasta a un embudo Buchner o similar con papel de filtro cualitativo rápido y se aplica vacío.*

- *Se calibra el conductímetro con soluciones estandarizadas de cloruro de potasio 0.01 N y 0.02 N, conductividades aproximadas de 1.36 y 2.70 dS/m respectivamente.*

- *Se mide la conductividad eléctrica en el filtrado*

- *Registre y corrija las lecturas con base en la temperatura. Si el conductímetro no dispone de compensación de temperatura, debe hacerse la corrección a 25 °C por medio de las tablas correspondientes.*

5.1.3.4 Cálculos

5.1.3.4.1 Capacidad de retención de agua (porcentaje de saturación)

Se expresa teniendo en cuenta la siguiente relación:

$$\% \text{ Saturación} = \left[\frac{A \times 100}{Wm}\right]\left[\frac{100 - \% \text{ humedad}}{100}\right]$$

En donde:

A = Volumen en ml de agua utilizado para alcanzar el punto de saturación.

Wm = peso en g de la muestra seca

% humedad = contenido de humedad del producto (Véase el numeral 5.1.1.3)

5.1.3.4.2 pH

Se expresa en unidades de pH.

5.1.3.4.3 Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica es la lectura obtenida en el conductímetro con la respectiva corrección por temperatura y se expresa en dS/m.

5.1.4 Cuantificación de cenizas por el método de pérdidas por volatilización

5.1.4.1 Principio del método

Esta determinación es una aproximación del contenido de materia orgánica presente en el producto, considerando que el 100 % del producto menos la suma del porcentaje de cenizas, carbonatos y humedad refleja el contenido de materia orgánica. No obstante es importante verificar la presencia de otros componentes volátiles provenientes principalmente de fuentes nitrogenadas.

5.1.4.2 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Mufla*
- *Desecador*
- *Crisoles de porcelana*

5.1.4.3 Procedimiento

- *Pese aproximadamente 5 g del material preparado según lo indicado en el numeral 5.1.1, en un crisol de porcelana.*

- *Se coloca el crisol en la mufla y se deja a 650 °C durante 4 h.*

- *Al cabo de este tiempo, se deja enfriar y se pasa el crisol a un desecador.*

- *Se registra el peso final.*

5.1.4.4 Cálculos

$$\% \text{ cenizas} = \left[\frac{\text{peso final} \times 100}{\text{Peso inicial}}\right]\left[\frac{100 - \% \text{ humedad}}{100}\right]$$

% pérdidas por volatilización = 100 - % cenizas

En donde.

% humedad = contenido de humedad del producto (véase el numeral 5.1.1.3)

5.1.5 Cuantificación de carbonatos

5.1.5.1 Principio del método

El método descrito para la cuantificación de carbonatos se fundamenta en la adición de un volumen en exceso de una solución normalizada de ácido clorhídrico, el cual reacciona con los carbonatos presentes. El exceso de ácido se valora con una solución de hidróxido de sodio normalizada.

5.1.5.2 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Bureta de 25ml*
- *Pipeta aforada de 25ml*
- *Erlenmeyer*
- *Estufa*

5.1.5.3 Reactivos

- *Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.5N*
- *Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5N*
- *Solución de fenolftaleína*

5.1.5.4 Procedimiento

- *Pese aproximadamente 0.5 g de material preparado como se indica en el numeral 5.1.1, en un erlenmeyer.*

- *Se adiciona 25 ml de HCl 0.5 N*

- *Se lleva a ebullición durante 5 min*

- *Se deja enfriar y se titula con NaOH 0.5 N en presencia de fenolftaleína.*

5.1.5.5 Cálculos

% Carbonatos (CO3 =)

$$= \left[\frac{(V_{HCl} \times N_{HCl}) - (V_{NaOH} \times N_{NaOH}) \times 0.03 \times 100}{Wm}\right] \left[\frac{100 - \%\ humedad}{100}\right]$$

Ó

% Carbonatos (CaCO3)

$$= \left[\frac{(V_{HCl} \times N_{HCl}) - (V_{NaOH} \times N_{NaOH}) \times 0.03 \times 100}{Wm}\right] \left[\frac{100 - \%\ humedad}{100}\right]$$

V_{HCl} = *volumen en ml utilizado de solución de ácido clorhídrico*

N_{HCl} = *normalidad de la solución de ácido clorhídrico*

V_{NaOH} = *Volumen en ml de solución de hidróxido de sodio*

N_{NaOH} = *normalidad de la solución de hidróxido de sodio*

Wm = Peso en g de la muestra seca

5.1.6 Cuantificación del carbono orgánico oxidable total

5.1.6.1 Principio del método

El método descrito para la cuantificación del carbono conocido como el método de Walkley Black se fundamenta en la reducción del ión dicromato y el contenido de carbono se mide por el ión dicromato no reducido, en consecuencia es un método indirecto. Esto significa que esta sujeto a interferencias tales como cloruros.

El método aquí enunciado es volumétrico, sin embargo puede hacerse también colorimétricamente, previa estandarización de la curva respectiva.

5.1.6.2 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Erlenmeyer de 250 ml*
- *Bureta de 50 ml*
- *Pipetas aforadas de 20 ml y 10 ml*

5.1.6.3 Reactivos

- *Agua destilada*
- *Solución de dicromato de potasio ($K_2 Cr_2 O_7$) 1.0 N*
- *Ácido sulfúrico concentrado ($H_2 S O_4$)*
- *Ácido ortofósforico concentrado*
- *Solución indicadora de ortofenantrolina o defenilamina*
- *Solución de sulfato ferroso amónico 0.5 N*

5.1.6.4 Procedimiento

(Este procedimiento se ilustra en la marcha analítica indicada en el anexo A)

- *Pese en un erlenmeyer de 250 ml entre 0.1 g y 0.5 g del producto preparado como se indica en el numeral 5.1.1, como aproximación a 0.0001 g.*

- *Se adiciona 10 ml de solución de dicromato de potasio 1.0 N, se deja en contacto unos minutos y se agregan 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se agita manualmente durante 1 min y se deja enfriar durante 30 min. A continuación se agrega agua (volumen no mayor de 50 ml ni menor de 20 ml), 5 ml de ácido ortofosfórico y 5 gotas de solución indicadora.*

- *Si al adicionar la mezcla oxidante ($K_2 Cr_2 O_7$ y $H_2 S O_4$) la solución se torna verde brillante, se deben duplicar las cantidades añadidas o pesa, menos producto según sea el caso.*

- *Se prepara paralelamente un blanco de reactivos (10 ml de $K_2 Cr_2 O_7$ 1.0 N y 20 ml de $H_2 S O_4$ concentrado). Este paso permite tener un blanco de reactivos y valora la normalidad de la solución del sulfato ferroso amónico.*

- *Se titula el blanco de reactivos con la solución de sulfato ferroso amónico. El cambio de color observado será de un amarillo típico de la solución de dicromato, a un verde brillante. Se registra el volumen (debe ser aproximadamente 20 ml)*

- *Se titulan las muestras objeto del ensayo, con la solución de sulfato ferroso amónico valorada. El cambio de color observado debe ser desde el amarillo (poco o ningún contenido de carbono) o desde un café rojizo hasta color verde brillante.*

5.1.6.5 Cálculos

5.1.6.5.1 Normalidad de la solución de sulfato ferroso amónico

$$Normalidad = \frac{10\ ml}{V}$$

En donde:

10 ml = volumen de solución de dicromato 1N usado para el blanco

V = Volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gestado en la titulación

5.1.6.5.2 contenido de carbono orgánico oxidable total del producto

$$\%\ C.O._{ox} = \left[\frac{(Vb \times Vm) \times N \times 0.003 \times 100}{Wm}\right] \left[\frac{100 - \%\ humedad}{100}\right]$$

En donde:

Vb = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en el blanco.

Vm = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en la muestra.

N = normalidad de la solución de sulfato ferroso amónico

Wm = peso en g de muestra seca

% humedad = contenido de humedad del producto (véase el numeral 5.1.1.3)

NOTA: Se debe tener en cuenta el valor de la densidad en caso de haber tomado un peso de muestra.

5.1.7 Cuantificación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC)

5.1.7.1 Principio del método

El método descrito es el del acetato de amonio 1 N pH 7.0 el cual presenta algunas ventajas sobre los demás métodos conocidos. Se basa en el reemplazo de las posiciones de intercambio por el ión amonio y su posterior desplazamiento con una solución de cloruro de sodio, produciendo cloruro de amonio el cual en presencia de formaldehído forma estequiométricamente un complejo nitrogenado y ácido clorhídrico el cual es evaluado con hidróxido de sodio.

5.1.7.2 Equipos y materiales

- *Balanza*
- *Frascos de vidrio o plástico de 250 ml*
- *Varillas de vidrio*
- *Bomba de vacío*
- *Embudos Buchner de porcelana*
- *Erlenmeyers con desprendimiento lateral*
- *Bureta*
- *Agitador recíproco*

5.1.7.3 Reactivos

- *solución de acetato de amonio 1 N pH 7.0*
- *Etanol 95%*
- *Solución de cloruro de sodio (NaCl), 10 %*
- *Solución de formaldehído, 37% neutralizada*
- *Solución de hidróxido de sodio (NaOH), 0.1 N valorada.*
- *Fenolftaleína*

5.1.7.4 Procedimiento

- *Pese en un frasco 5 g de muestra preparada como se indica en el numeral 5.1.1*

- *Se adiciona 100 ml de acetato de amonio 1 N pH 7.0*

- *Se agita durante 2 h en agitador recíproco o con una varilla de vidrio y se deja en contacto durante la noche*

- *Se filtra al vacío*

- *Se lava lentamente el residuo sobre el embudo con 5 porciones de 10 ml de acetato de amonio.*

- *Luego se lava con 5 porciones de 10 ml cada una, de etanol al 95 %*

- *Se sustituye el erlenmeyer por otro limpio*

- *Se lava con 5 porciones de 10 ml cada una, de solución de NaCl al 10 %.*

- *Desconecte el erlenmeyer y adicione al filtrado 10 ml de formaldehído al 37 % , unas gotas de fenolftaleína y titule con NaOH 0.1 N.*

- *Se lleva simultáneamente un blanco de reactivos.*

5.1.7.5 Cálculos

C.I.C.cmol (+) kg $^{-1}$ (me/100 g) =

$$= \left[\frac{(V_{NaOH\ muestra}) - (V_{NaOH\ blanco}) \times N_{NaOH} \times 100}{Wm}\right] \left[\frac{100 - \%\ humedad}{100}\right]$$

En donde:

V_{NaOH} *muestra = volumen en ml de NaOH empleado en la titulación de la muestra*

V_{NaOH} *blanco = volumen en ml de NaOH empleado en la titulación del blanco*

N_{NaOH} *= Normalidad de la solución de NaOH*

Wm = Peso en gramos de la muestra seca

% humedad = contenido de humedad del producto (véase el numeral 5.1.1.3)

5.1.8 Cuantificación del nitrógeno total, nitrógeno orgánico, nitrógeno nítrico y nitrógeno amoniacal en materiales clasificados como orgánicos y orgánico minerales.

Se determinan de acuerdo con lo indicado en las normas NTC 370, NTC 208, NTC 209 y NTC 211, teniendo en cuenta que se parte una muestra de ensayo preparada como se indica en el numeral 5.1.1

5.1.9 Cuantificación de fósforo y potasio en productos clasificados como orgánicos

5.1.9.1 Principio del método

Los métodos de análisis para la cuantificación de los elementos minerales presentes en un producto orgánico, son los establecidos para cuantificar los mismos, en un material

vegetal. Para tal efecto existen diferentes métodos el aquí descrito es un método definido como mineralización por vía seca. Por este método es posible cuantificar fósforo, potasio, calcio, magnesio, sodio, hierro, cobre, manganeso, zinc, boro y azufre. Sin embargo estos elementos también se pueden determinar por mineralización vía húmeda.

5.1.9.2 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Mufla*
- *Crisoles de porcelana*
- *Plancha de calentamiento*
- *Balones aforados de 50 ml*
- *Embudos*
- *Papel de filtro cualitativo*

5.1.9.3 Reactivos

- *Ácido clorhídrico concentrado (HCl)*

5.1.9.4 Procedimiento

- *Pese de 2.0 g a 2.5 g de muestra seca, molida y tamizada, en el crisol de porcelana.*

- *Se calcina en la mufla a 650 °C durante 4 h*

- *Se deja enfriar*

- *Se humedece en agua destilada*

- *Luego se adiciona 2 ml de HCl concentrado*

- *A continuación se coloca sobre la plancha de calentamiento y se evapora lentamente hasta sequedad, evitando salpicaduras.*

- *Se agrega 2 ml de agua destilada y 2 ml de HCl concentrado*

- *Se calienta suavemente sin permitir que se seque. Deje enfriar*

- *Se transfiere cuantitativamente a un balón aforado de 50 ml (puede o no ser necesario filtrar). Se lleva a volumen.*

- *Sobre este extracto se cuantifica el fósforo y el potasio*

5.1.9.5 Cálculos

Los cálculos se realizan de acuerdo con lo establecido en las normas NTC 202 y NTC 234.

5.1.10 Cuantificación de Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, elementos menores y metales pesados en productos clasificados como orgánico – minerales y en enmiendas orgánicas no húmicas

5.1.10.1 Principio del método

Para los productos orgánicos minerales, el método de mineralización de los elementos tiene en cuenta su presencia en material orgánico como en el mineral. Para el primer tipo de nutrientes se requiere un agente oxidante y en el caso de los de origen mineral es suficiente la digestión con ácido clorhídrico. A su vez, con esta muestra es posible cuantificar los metales pesados tales como el Cadmio, Plomo, Cromo, Níquel, Mercurio y Arsénico, empleando los mismos métodos con los que se cuantifican en suelos. La muestra se mineraliza en una mezcla de ácido nítrico y clorhídrico (agua regia) y se evalúan por absorción atómica o por otro método equivalente.

5.1.10.2 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Plancha de calentamiento*
- *Balones aforados de 50 ml*
- *Embudos*
- *Papel de filtro cualitativo*

5.1.10.3 Reactivos

- *Ácido clorhídrico (HCl), concentrado*
- *Ácido nítrico (HNO_3), concentrado*
- *Los demás reactivos especificados en las normas NTC 1860, NTC 1369, NTC 234 Y NTC 202.*

5.1.10.4 Procedimiento

- *Se pesan aproximadamente 5g de la muestra preparada como se indica en el numeral 5.1.1.*
- *Se adicionan 35ml de agua regia (HCl: HNO_3)*
- *Se coloca sobre una plancha de calentamiento y se evapora lentamente hasta sequedad.*
- *Se adicionan 15ml de agua regia*
- *La mezcla se calienta durante 30 min más y se deja enfriar.*
- *Se adicionan 100ml de agua y se filtra empleando papel de filtro cualitativo previamente pesado.*
- *Se lava el papel de filtro con agua destilada o desmineralizada.*
- *El papel de filtro junto con el residuo se seca en estufa a 80°C, hasta peso constante.*
- *El filtrado se lleva a 250ml con agua destilada y se cuantifica el contenido de fósforo, potasio, calcio, magnesio y los elementos menores de acuerdo con lo establecido en las normas NTC 1860, NTC 1369, NTC 234, NTC 202.*

- *Los metales pesados se cuantifican por absorción atómica a un método equivalente.*

5.1.10.5 Cálculos

5.1.10.5.1 Residuo insoluble en ácido

$$\% \text{ Residuo insoluble en ácido} = \left[\frac{W_3 - W_2 \times 100}{W_1}\right]\left[\frac{100 - \% \text{ humedad}}{100}\right]$$

En donde:

W_1 = *Peso en g de muestra seca*

W_2 = *Peso en g del papel de filtro*

W_3 = *Peso en g del papel de filtro junto con el residuo seco*

% de humedad = contenido de humedad del producto (Véase el numeral 5.1.1.3)

5.1.10.5.2 Fósforo, calcio, magnesio y elementos menores.

Los cálculos se realizan de acuerdo con lo indicado en las normas NTC 1860, NTC 1369, NTC 234, NTC 234 Y NTC 202.

5.1.11 Determinación de la fracción húmica

Por definición los materiales húmicos son de origen pedogenético y analíticamente es la fracción de materia orgánica (carbono orgánico) extraíble o soluble en medio alcalino.

En la actualidad, los productos cuyo componente principal son las sustancias húmicas, se comercializan en dos presentaciones: sólidos y líquidos.

5.1.11.1.1 Cuantificación del carbono orgánico del Extracto Húmico Total (CEHT) y de la solubilidad en medio alcalino.

5.1.11.1.1.1 Principio del método

El extracto húmico total se define como el contenido de carbono total extraíble en medio alcalino sobre un material de origen pedogenético, esto es de un suelo, de una leonarditao de un carbón oxidado químicamente.

La marcha analítica consignada en el Anexo C, esta diseñada para llevar el material orgánico húmico sólido a las condiciones fisicoquímicas bajo las cuales se comercializan las enmiendas orgánicas húmicas líquidas.

5.1.11.1.1.2 Equipos y materiales

- *Agitador recíproco*
- *Erlenmeyer de 250ml*
- *Embudos de vidrio*
- *Papel de filtro cualitativo rápido (S&S 595) o centrífuga*
- *Tubos para centrífuga*
- *Pipetas aforadas de 2ml y 5ml*
- *Vasos de precipitados de 400ml y 100ml*
- *Baño de agua*
- *Bureta de 25ml*
- *Recipientes de plástico para agitación*

5.1.11.1.1.3 Reactivos

- *Agua destilada o desmineralizada*
- *Solución de hidróxido de potasio (KOH) del 4% p/v*
- *Solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1.0N*
- *Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)*
- *Ácido ortofofórico concentrado*
- *Solución indicadora de ortofenantrolina o difenilamina*
- *Solución de sulfato ferroso amónico 0.5N*

5.1.11.1.1.4 Procedimiento

- *Se pasan 15g del producto preparado como se indica en el numeral 5.1.1 y se adicionan 100ml de solución de KOH del 4% p/v.*
- *Se agita durante 2 h en agitador recíproco*
- *Se filtra con papel cualitativo rápido o se centrífuga. Por cualquiera de los dos métodos se obtiene un sobrenadante y un residuo insoluble.*
- *El residuo insoluble se somete a lavados sucesivos con agua sobre un embudo de filtración hasta fin de alcalinidad. Se seca en estufa a 50°C y se pesa.*
- *Del sobrenadante obtenido se toma una alícuota de 2ml en un erlenmeyer de 125ml y se evapora en baño de María a 50°C (Se debe tener cuidado que la temperatura no se exceda de los 70°C), o sobre plancha de calentamiento cuidando que no se produzcan salpicaduras.*
- *Se adiciona la mezcla ($K_2Cr_2O_7$ y H_2SO_4) y una vez frío se procede como se describe en el numeral 5.1.6.4.*

5.1.11.1.1.5 Cálculos

5.1.11.1.1.5.1 Cálculo de la solubilidad del producto en medio alcalino

$$\% \text{ sólidos solubles en medio alcalino} = \left[\frac{W_R}{W_m} x100\right]\left[\frac{100 - \% \text{ humedad}}{100}\right]$$

En donde:
W_R *= Peso en g del residuo seco*

W_m *= Peso en g de la muestra seca*

5.1.11.1.1.5.2 Cálculo del carbono del extracto húmico total

$$\%\ C\ EHT = \left[\frac{(Vb - Vm) \times N \times 0.003 \times 100 \times 100}{A \times Wm}\right]\left[\frac{100 - \%\ humedad}{100}\right]$$

% C EHT = gramos de carbono del extracto húmico total por 100g de producto húmedo.

Vb = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico utilizado en el blanco.
Vm = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico utilizado en la titulación de la muestra en estudio.

N = normalidad de la solución de sulfato ferroso amónico

100 = volumen en ml de solución extractante de KOH

A = Alícuota de la solución problema

Wm = Peso en g de la muestra seca

% de humedad = Contenido de humedad del producto (Veáse el numeral 5.1.1.3)

5.1.11.1.2 Distribución del carbono del extracto húmico total

5.1.11.1.2.1 Carbono orgánico en los ácidos húmicos % CAH

5.1.11.1.2.1.1Principio del método

El carbono de los ácidos húmicos es el contenido de carbono precipitable a pH 2 a partir del extracto húmico total es decir del extracto en medio alcalino. De igual manera el contenido de carbono que no es precipitable a pH 2 y que se mantiene en solución se denomina carbono de ácidos fúlvicos.

5.1.11.1.2.1.2 Equipos y materiales

- *Centrífuga o embudos de vidrio*
- *Papel de filtro cualitativo rápido*
- *Vasos de precipitados de 250ml*
- *Potenciómetro*

5.1.11.1.2.1.3 Reactivos

- *Agua destilada*
- *Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)*

5.1.11.1.2.1.4 Procedimiento

- *Se toma una alícuota de 25ml del extracto húmico total de un vaso de precipitados y se adiciona ácido sulfúrico concentrado hasta pH 2.*
- *Se coloca el vaso de precipitados con la solución a 4°C por 24 h. Al cabo de este tiempo se centrífuga por 15 min a 4000 rpm o se filtra.*
- *Si se centrífuga, se pasa el precipitado con agua destilada ayudado por un frasco lavador de chorro fino de 50ml. En caso de filtrar se procede de igual manera.*
- *Se seca el precipitado a 50°C en baño de María y se pesa.*
- *Se toma 0.1g del precipitado seco y se procede como en el numeral 5.1.6.4.*

5.1.11.1.2.1.5 Cálculos

$$\%\ CAH = \left[\frac{(Vb - Vm) \times N \times 0.003 \times Wt \times 100ml \times 100g}{0.1g \times 25ml \times 15g}\right]\left[\frac{100 - \%\ humedad}{100}\right]$$

En donde:

% CAH = gramos de carbono de ácidos húmicos por 100g de muestra

Vb = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en el blanco

Vm = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en la titulación de la muestra en estudio.

N = normalidad de la solución de sulfato ferroso amónico

Wt = peso total del residuo en g.

% humedad = contenido de humedad del producto (véase el numeral 5.1.1.3)

5.1.11.1.2.2 Carbono orgánico en Ácidos Fúlvicos %CAF

$$\%CAF = \%CEHT - \%CAH$$

5.1.11.2 Determinación de la fracción húmica en las enmiendas orgánicas húmicas líquidas

5.1.11.2.1 Cuantificación del carbono orgánico del extracto húmico total

5.1.11.2..1.1 Equipos y materiales

Se emplean los equipos y materiales descritos en el numeral 5.1.11.1.1.2

5.1.11.2.1.2 Reactivos

- *Agua destilada*
- *Solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1.0N*
- *Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)*
- *Ácido ortofofórico concentrado*
- *Solución indicadora de ortofenantrolina o difenilamina*
- *Solución de sulfato ferroso amónico 0.5N*

5.1.11.2.1.3 Procedimiento

(Este procedimiento se ilustra en la marcha analítica indicada en el Anexo D)

- *Se homogeneiza y verifica eel pH*
- *Se cuantifica el potasio*
- *Se toma una alícuota de 2ml en un erlenmeyer de 125ml y se evapora en baño de María a 50°C (se debe tener cuidado que la temperatura no exceda de los 70°C), o sobre plancha de calentamiento cuidando que no se produzca salpicaduras.*
- *Se adiciona la mezcla oxidante ($K_2Cr_2O_7$ y H_2SO_4) y una vez frío se procede como se describe en el numeral 5.1.6.4.*

5.1.11.2.1.4 Cálculos

$$g/l\ CEHT = \frac{(Vb - Vm) \times N \times 0.003}{A} \times 1000$$

En donde:

g/l CEHT = gramos de carbono del extracto húmico total por litro de producto.

Vb = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en el blanco

Vm = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en la titulación de la muestra en estudio.

N = normalidad de la solución de sulfato ferroso amónico

A = alícuota tomada

5.1.11.2.2 Distribución del carbono de extracto húmico total

5.1.11.2.2.1 Carbono orgánico de ácidos húmicos g/l CAH

5.1.11.2.2.1.1 Procedimiento

Se realiza de acuerdo con lo indicado en el numeral 5.1.11.1.2.1

5.1.11.2.2.1.2 Cálculos

$$g/l\ CAH = \frac{(Vb - Vm) \times N \times 0.003 \times 1000}{0.1g \times 25}$$

En donde:

g/l CAH = gramos de carbono de ácidos húmicos por litro de producto

Vb = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en el blanco

Vm = volumen en ml de solución de sulfato ferroso amónico gastado en la titulación de la muestra en estudio.

N = normalidad de la solución de sulfato ferroso amónico

5.1.11.2.2.2 Carbono orgánico de ácidos fúlvicos g/l CAF

$$g/l\ CAF = g/l\ CEHT - g/l\ CAH$$

5.2 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

5.2.1 Enriquecimiento, aislamiento y detección de salmonella

1. *Eriquecimiento previo no selectivo (regeneración)*

Pese 25g de muestra y viértalos en un erlenmeyer con 225ml de caldo lactosado haciendo una suspensión. Inclube a 35°C durante 24 h – 48 h.

2. *Enriquecimiento selectivo*

En un erlenmeyer se disuelve 1.38g de caldo tetrationato en 30ml de agua destilada, se mezcla y calienta hasta ebullición (NO UTILIZAR AUTOCLAVE), se enfría y cuando alcance los 45°C agregar solución de yodo. Se mezcla todo y se adicionan 10ml en dos o tres tubos previamente esterilizados.

Preparación de solución de yod: se pesa 0.18g de yodo y 0.15g de yoduro de potasio, todo esto se adiciona a los 30ml de calcio tetrationato.

(Si se tiene la solución de yodo preparada, se adicionan 0.6ml de esta solución a los 30ml de calcio tetrationato)

5.2.1.1 Procedimiento

- *Después de la incubación del caldo lactosado más los 25g de muestra por 24 h 48 h, se toma 1ml de esta solución y se lleva a los tubos con caldo tetrationato (1 ml por cada tubo). Tratar de adicionar el mililitro cuando el medio esté más o menos a 30°C – 35°C. Se incuba de 24 h a 48 h a 37°C.*

- *Aislamiento: se toma una asada llena de inóculo de cada uno los tubos con el caldo y se extiende sobre medios de cultivo sólidos (agar Bismuto Sulfito o agar Salmonella – Shigella), hasta agotar la muestra, de tal forma que se puedan obtener colonias aisladas. Se incuba a 37°C durante 24 h a 48 h.*

5.2.1.2 Lectura

En agar bismuto sulfito: colonias pardas con el centro negro, borde claro, precipitado negro con brillo metálico alrededor de las colonias: Salmonella, excepto Salmonella paratyphi A y Salmonella pollorum.

En agar Salmonella Shigella: colonias incoloras: Sisellas y la mayoría de Salmonellas.

Transparentes con el centro negro: Proteus y algunas Salmonellas.

Reportar los resultados como presencia ausencia de Salmonella en 25g de muestra.

5.2.2 Recuento total de microorganismos mesófilos facultativos (Método estándar de recuento en placa por siembra en profundidad)

5.2.2.1 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Estufa de incubación*
- *Contador de colonias*
- *Pipetas de 1ml y 10ml estériles*
- *Cajas de petri estériles*
- *Recipiente de vidrio resistentes a la temperatura del autoclave*
- *Instrumentos para preparar la preparación de muestras: cuchillos, pinzas, espátulas. Todo el material debe estar previamente esterilizado.*

5.2.2.2 Reactivos

- *Agua peptonada al 0.1%: frascos con 90ml y tubos con 9ml, estériles.*
- *Agar para recuento en placa, fundido y enfriado a 48°C± 2°C.*

5.2.2.3 Procedimiento

a) *Preparar las muestras y las diluciones de los homogenizados de la siguiente manera:*

- *Pese 10g de muestra representativa*
- *Se añade 90ml de diluyente (agua peptonada) y se mezcla durante 2 min como máximo.*
- *Se deja la mezcla en reposo, a temperatura ambiente, durante 15 min. De esta manera se obtiene la dilución $10^{-1.}$*

- *Se mezcla nuevamente el contenido de la primera dilución agitando y se toma con pipeta una alícuota de 1ml y se lleva a un tubo con 9ml del diluyente (agua peptonada). Se mezcla con otra pipeta diferente para homogenizar la muestra. Esta es la dilución $10^{-2.}$*
- *Se continua preparando el número de diluciones necesarias.*

b) *Siembra de las muestras:*

- *Se toma con pipeta y por duplicado, en cajas de petri, alícuotas de 1ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}*

Estas diluciones se recomiendan cuando no se conozca previamente el número aproximado de microorganismos presentes en la muestra. Otras veces se escogen aquellas que por experiencia permiten realizar adecuadamente los conteos.

- *Inmediatamente después de adicionar la alícuota, se agrega a cada placa de petri 12ml a 15ml de agar de cuenta de gérmenes, fundido y mantenido entre 45°C a 48°C.*
- *Luego se mezclan de manera homogénea el inóculocon el agar, agitando las placas en varias direcciones con movimientos cortos pero firmes; de esta manera se asegura que las colonias se separen y se puedan contar fácilmente.*

5.2.2.4 Lectura y cálculos de recuento

- *Seleccione las placas de una misma dilución que presente entre 30 y 300 colonias.*
- *Utilizando el contador de colonias, se cuentan todas las colonias.*
- *Se calcula el número de colonias visibles por gramo de muestra.*

5.2.3 Recuento total de hongos y levaduras

5.2.3.1 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Contador de colonias*
- *Baño de María a 50°C*
- *Cajas de petri estériles*
- *Pipetas de 1ml y 10ml estériles*
- *Recipientes de vidrio, resistentes a la temperatura del autoclave.*
- *Instrumentos para preparar las muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, espátulas. Todo el material debe estar previamente esterilizado.*

5.2.3.2 Reactivos

- *Agua peptonada al 0.1% estéril: frascos con 90ml y tubos con 9ml*
- *Oxitetraciclina Gentamicina Extracto de levadura Agar (AgarOGY) fundido y mantenido entre 46°C a 48°C.*

5.2.3.3 Procedimiento

a) *Se preparan las muestras y las diluciones de los homogenizados de la siguiente manera:*

- *Se pasa 10g de la muestra*
- *Se añade 90ml del diluyente (agua peptonada) y se homogeneiza o mezcla por 2 min como máximo.*
- *Se deja la mezcla en reposo, a temperatura ambiente durante 15 min. De esta manera se obtiene la dilución* 10^{-1}
- *Se mezcla nuevamente el contenido de la primera dilución agitando, y se toma con pipeta una alícuota de 1ml a un tubo con 9ml del diluyente (agua peptonada). Se mezcla con otra pipeta diferente para homogeneizar la muestra. Esta es la dilución* $10^{-2.}$
- *Se continua preparando el número de diluciones necesarias.*

b) *Siembra de las muestras:*

- *Se toma con una pipeta por duplicado, en placas de petri, alícuotas de 1ml de las diluciones.*

$$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$$

Las citadas diluciones se aconsejan en los casos en que no se conozca previamente el número aproximado de microorganismos presentes en la muestra; pero puede modificarse siempre que lo aconseje la cantidad de microorganismos esperados.

- *Inmediatamente después de adicionar la alícuota se agrega a cada placa de petri 12ml a 15ml del medio oxitetraciclina-gentamicina-extracto de levadura.*
- *Se mezcla el inóculo con el agar, inclinando y girando las placas.*
- *Como prueba de control de la esterilidad, se vierte una cantidad de medio de cultivo sobre una placa de petri sin muestra (marcarla como "Control").*
- *Se dejan las placas sobre una mesa en reposo hasta que se solidifique el agar.*
- *Se invierten las placas y se incuban a temperatura de laboratorio (temperatura ambiente) durante 3d a 5d.*

5.2.3.4 Lectura y cálculos de recuento

- *Se seleccionan las placas de una misma dilución que presente entre 30 y 300 colonias.*
- *Utilizando el contador de colonias, se cuentan todas las colonias.*
- *Se calcula el número de hongos y levaduras visibles por gramo de muestra.*

5.2.4 Recuento de enterobacterias

5.2.4.1 Equipos y materiales

- *Balanza analítica*
- *Estufa de incubación a 35°C-37°C*
- *Contador de colonias*
- *Instrumentos para preparar muestras espátulas, tubos de ensayo, pipetas de 1ml, cajas de petri (100mm x 15mm) estériles.*

5.2.4.2 Reactivos

- *Agar – cristalvioleta – rtro – bilis – osa.*
- *Bactident – oxidasa.*

5.2.4.3 Procedimiento

- *Se disuelven 10g de la muestra en 90ml del diluyente (agua peptonada) se deja en agitación durante 5 min (esta es la dilución 10^{1}). Con pipeta de 1ml se mezcla con cuidado aspirando varias veces.*
- *Se transfiere 1ml de la dilución 10^{1} en un tubo con 9ml de diluyente, se descarta la pipeta, esta es la dilución 10^{2} .*
- *Se repiten los dos últimos pasos hasta realizar el número de diluciones necesarias.*
- *Se toma con la pipeta y por duplicado en placas de petri, alícuotas de 1ml de la serie de diluciones.*
- *A continuación se agrega aproximadamente 10ml del medio cristal violeta rojo neutro – bilis – glucosa, fundido enfriado a 46°C – 48°C, a cada una de las placas.*
- *Se mezclan las diluciones con el medio, inclinando y girando las placas varias direcciones.*
- *Como prueba de esterilidad, se vierte una cantidad de medio de cultivo sobre una placa de petri sin muestra (control).*
- *Se dejan las placas sobre la mesa hasta que el medio se solidifique.*
- *Una vez solidificado el medio de las placas se agrega otra vez, aproximadamente 8ml del medio fundido y enfriado a 46°C – 48°C.*
- *Después de solidificada esta nueva etapa, se invierten las placas y se incuban a 35°C – 37°C durante 21h 3h.*

5.2.4.4 Lectura y cálculo de los recuentos

Se seleccionan las placas que contengan entre 30 y 300 colonias violetas, rodeadas por precipitado rojo violeta.

- *Se toman mínimo tres colonias y se realiza a cada una de ellas la prueba de oxidasa.*
- *Se calcula de acuerdo a las diluciones, el número de enterobacterias viables por gramo de muestra.*

5.3 INFORME DE LOS ENSAYOS

El informe de los ensayos deberá incluir los siguientes datos:

- *Identificación de la muestra*
- *Condición física de la muestra*
- *Referencia al método utilizado*
- *El resultado y el método de expresión*
- *Cualquier característica inusual durante la determinación.*

6. EMPAQUE Y ROTULADO

6.1. EMPAQUE

El rotulado debe ser tal que garantice la calidad el producto contenido.

6.2 ROTULADO

El rotulado debe cumplir con la NTC 40. Deberá hacerse de acuerdo con la NTC N°40 (Séptima actualización).

7. APÉNDICE

7.1. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos normativos referenciados son indispensables para la aplicación de este documento normativo. Para referencias fechadas, se aplica únicamente la edición citada. Para referencias no fechadas, se aplica la última edición del documento normativo referenciado (incluida cualquier corrección).

NTC 40:2003, Fertilizantes y acondicionadores de suelos. Etiquetado.

NTC 202:2001, Métodos cuantitativos para la determinación de potasio soluble en agua, en abonos o fertilizantes de materias para su fabricación.

NTC 208:1999, Abonos o fertilizantes. Método cuantitativo de determinación del nitrógeno nítrico.

NTC 209:1996, Abonos o fertilizantes. Método de ensayo cuantitativo para la determinación del nitrógeno amoniacal y de nitratos.

NTC 211:1997, Abonos o fertilizantes. Método cuantitativo de determinación del nitrógeno amoniacal por destilación.

NTC 234:1996, Abonos o fertilizantes. Método de ensayo para la determinación cuantitativa de FÓSFORO.

NTC 370:1997, Abonos o fertilizantes. Determinación del nitrógeno total.

NTC 627:1972, Abonos o fertilizantes. Determinación del cobre.

NTC 642:1972, Abonos o fertilizantes. Determinación del cobalto.

NTC 650:1997, Abonos o fertilizantes. Determinación del boro.

NTC 1369:1976, Fertilizantes. Determinación de cinc, cobre, hierro, manganeso, calcio y magnesio por absorción atómica.

NTC 1860:1997, Productos químicos para uso agropecuario. Abonos o fertilizantes. Método de ensayo para determinar el contenido de boro. Método de azometina-h.

NTC 1927:2001, Fertilizantes y acondicionadores de suelos. Definiciones, clasificación y fuentes de materias primas.

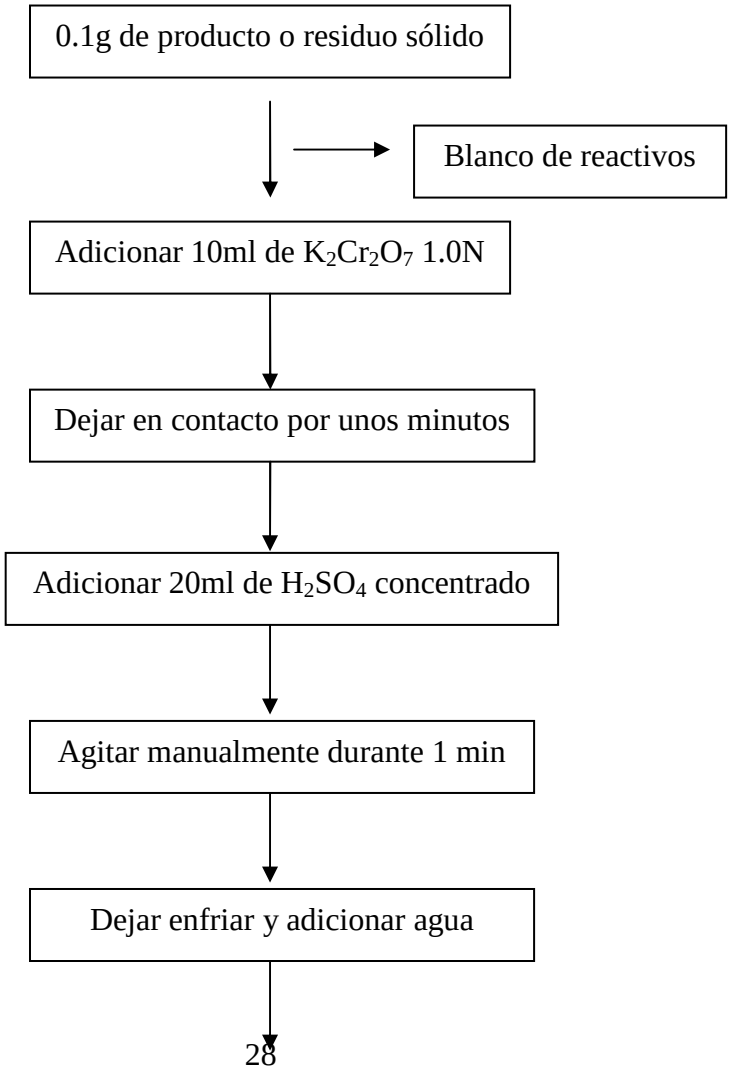
NTC-ISO 8633:1995, Fertilizantes sólidos. Método de muestreo simple para lotes pequeños.

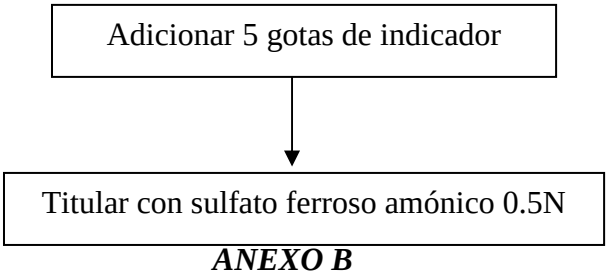
NTC-ISO 8634:1995, Fertilizantes sólidos. Plan de muestreo para la evaluación de una entrega grande.

NTC 3795:1995, Fertilizantes sólidos. Derivación de un plan de muestreo para la evaluación de una entrega grande.

ANEXO A
(Informativo)

MARCHA ANALÍTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL CARBONO ORGÁNICO OXIDABLE TOTAL EN UN PRODUCTO ORGÁNICO U ORGÁNICO MINERAL SÓLIDO

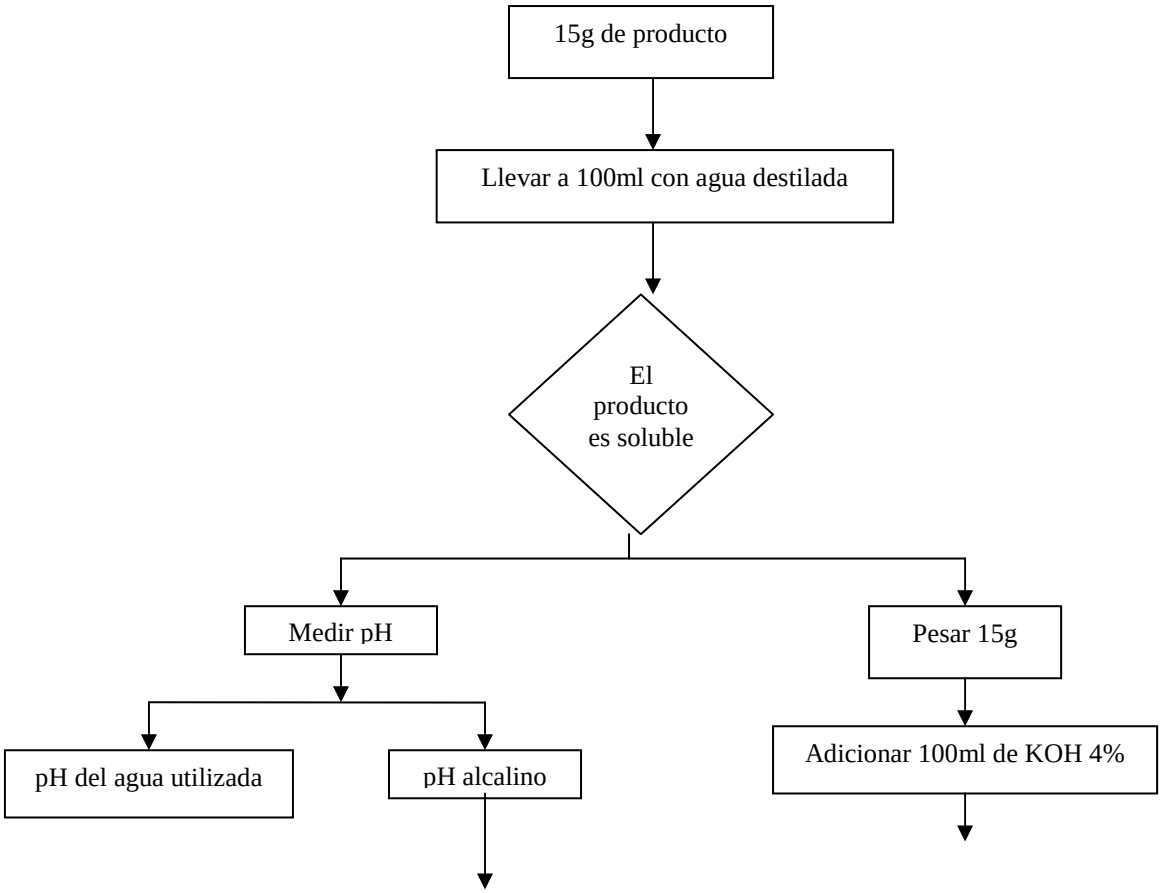


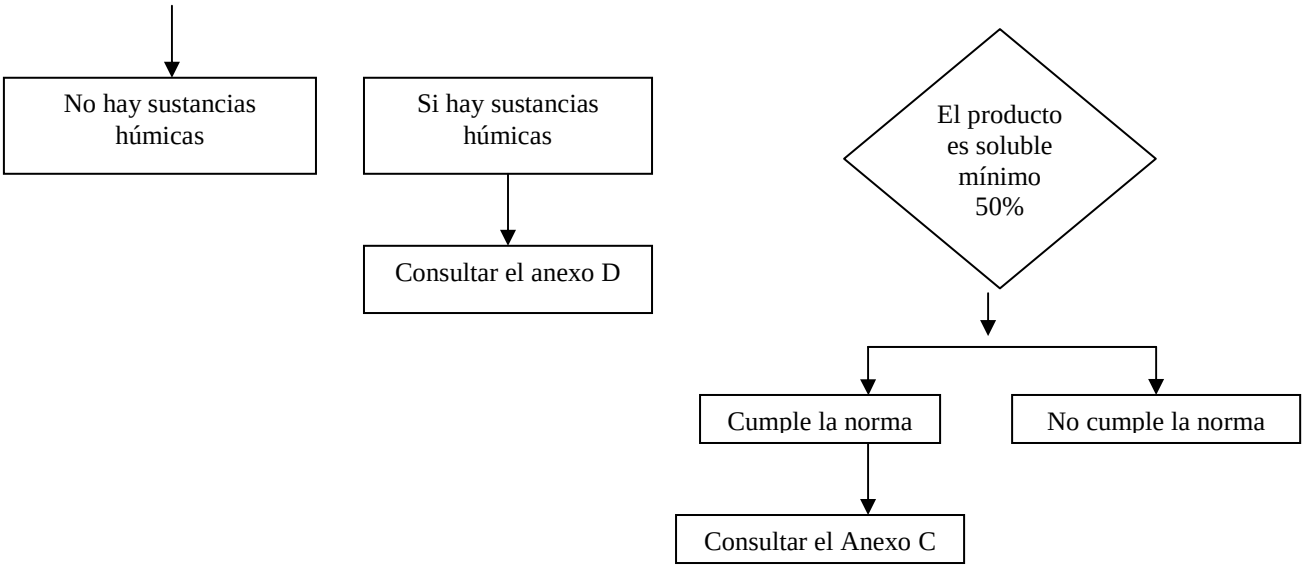


ANEXO B

(Informativo)

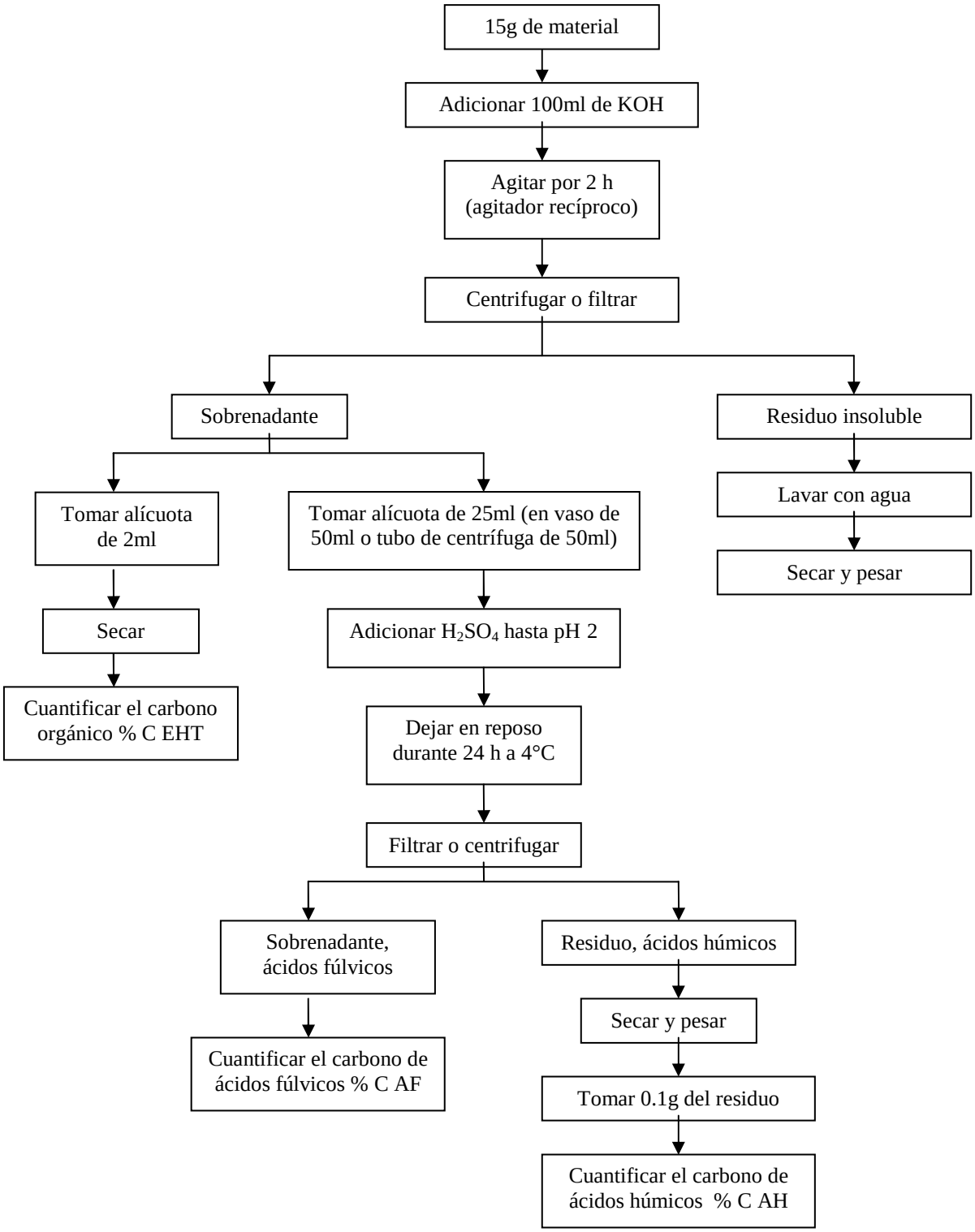
CRITERIOS PARA EVALUAR LA PRESENCIA DE SUSTANCIAS HÚMICAS EN ENMIENDAS ORGÁNICAS SEGÚN LOS PARÁMETROS DE ESTA NORMA.





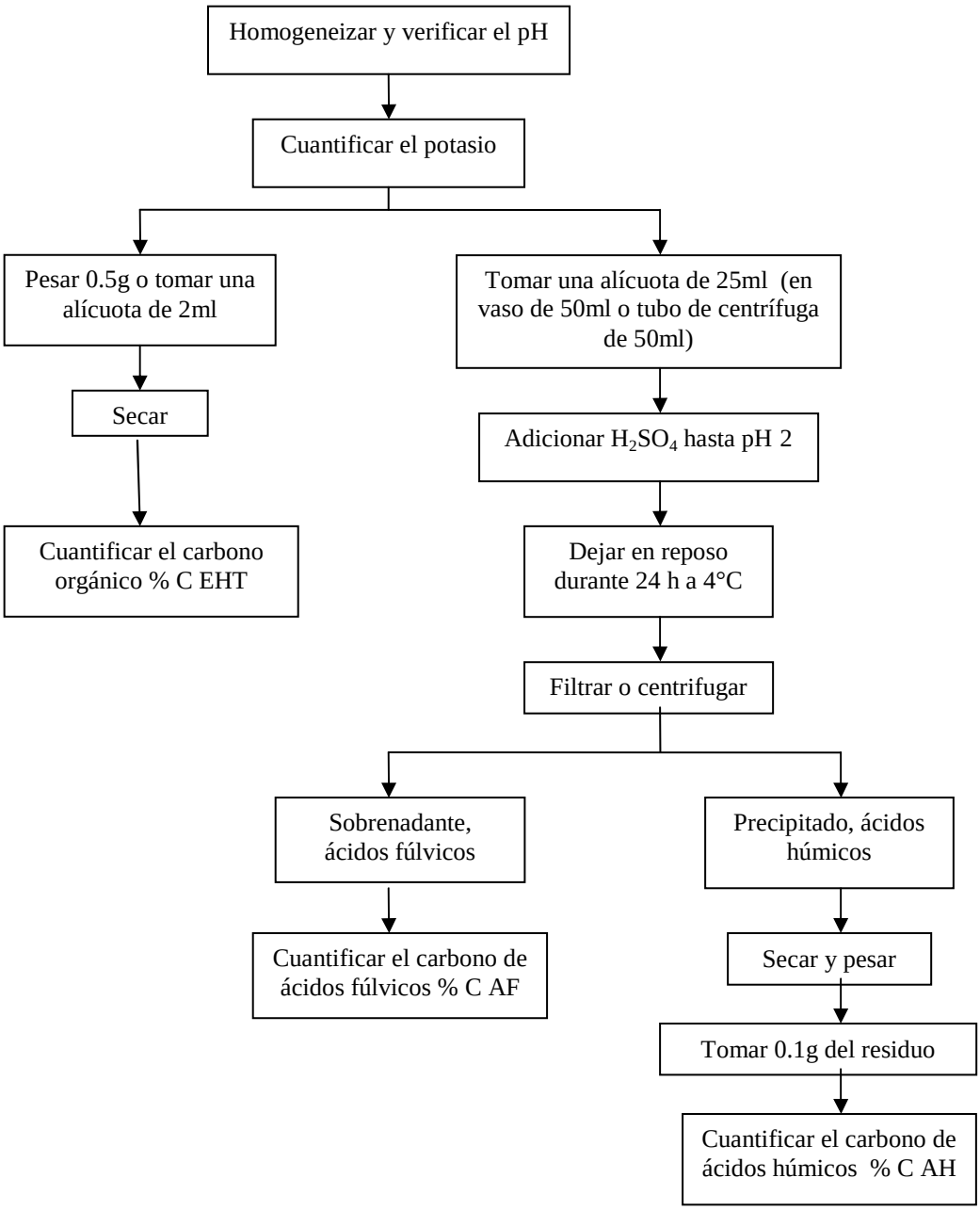
ANEXO C
(Informativo)

MARCHA ANALÍTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA FRACCIÓN HÚMICA EN ENMIENDAS ORGÁNICAS HÚMICAS SÓLIDAS.



ANEXO D
(Informativo)

MARCHA ANALÍTICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO EN LA FRACCIÓN HÚMICA EN ENMIENDAS ORGÁNICAS HÚMICAS LÍQUIDAS.


Homogeneizar y verificar el pH
Cuantificar el potasio
Pesar 0.5g o tomar una alícuota de 2ml
Tomar una alícuota de 25ml (en vaso de 50ml o tubo de centrífuga de 50ml)
Secar
Adicionar H_2SO_4 hasta pH 2
Cuantificar el carbono orgánico % C EHT
Dejar en reposo durante 24 h a 4°C
Filtrar o centrifugar
Sobrenadante, ácidos fúlvicos
Precipitado, ácidos húmicos
Cuantificar el carbono de ácidos fúlvicos % C AF
Secar y pesar
Tomar 0.1g del residuo
Cuantificar el carbono de ácidos húmicos % C AH