

ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE FÓSFORO APROVECHABLE EN FERTILIZANTES INORGÁNICOS

C. E. Carrillo de C¹., M. Ruíz², L. M. Aular¹, R. Mora¹, L. Castillo³, R. Noguera⁴, Carmen Silva⁵, Tirso Díaz⁵, M. Tovar², S. Fernández⁴, Isabel E. Arrieche⁵ y O. Gamboa¹.

*¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, ²Universidad Rómulo Gallegos-CIESA, ³EDAFOFINCA, ⁴Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado-Agronomía, ⁵Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-Yaracuy.
Correos electrónicos: estercori@gmail.com; magaruizdager@gmail.com*

RESUMEN

En un estudio interlaboratorio se evaluó un método directo para determinar fósforo disponible en fertilizantes inorgánicos, que incluye su extracción durante diez minutos en citrato de amonio normal y neutro y una determinación espectrofotométrica basada en el desarrollo del color amarillo con el reactivo vanadato-molibdato. Se analizaron tres fertilizantes (roca fosfórica, roca fosfórica acidulada y fosfato diamónico) y como estándar, fosfato monopotásico (KH₂PO₄) grado analítico, este último para determinar la exactitud. La precisión en términos de repetibilidad (r) y Reproducibilidad (R), se evaluó aplicando la Norma venezolana COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales) 2972-92 (ISO 5725-86). El método evaluado mostró una exactitud aceptable, con una recuperación entre el 98,98% y el 102,92 % del fósforo. La repetibilidad y la reproducibilidad no resultaron dependientes del contenido de pentóxido de fósforo (P₂O₅) con valores promedios (r=0,6278 y R=1,4430) menores que los del método indirecto tomado como referencia, lo cual implica mayor precisión. De acuerdo a estos resultados, este método puede ser recomendado como alternativa en la Norma COVENIN.

Palabras clave: Fósforo disponible en fertilizantes, precisión, exactitud, análisis de fertilizantes, estudio interlaboratorio

INTRODUCCIÓN

La expresión N P K, a veces seguida de otros números, conocida como “fórmula” de un fertilizante, indica el contenido de nutrientes (% p/p) disponibles en el producto, considerando N como elemento, P como P₂O₅ y K como K₂O (COVENIN, 1998, UNIDO e IFDC, 1998). La disponibilidad de los compuestos químicos presentes en los fertilizantes fosfatados, depende de su solubilidad en agua y otros reactivos. Es por eso que en estos materiales se determinan diferentes tipos de fósforo: fósforo total, (PT) fósforo soluble en agua (PSA), fósforo insoluble (PI), fósforo disponible (PD) y otros, basados en su solubilidad en ácidos fuertes, en agua, en soluciones de citrato de amonio neutro o alcalino, o de ácido cítrico, ácido fórmico, etc. (UNIDO e IFDC, 1998). Según la norma COVENIN (1977), el PD consiste en la cantidad de fósforo utilizable por las plantas y corresponde a la suma del fósforo soluble en agua, más el fósforo soluble en citrato de amonio neutro (PSA + PSCAN). Para determinar esta fracción del PT se emplea la modalidad gravimétrica, espectrofotométrica o volumétrica, esta última, indicada en la Norma COVENIN (1977), además de ser muy laboriosa, implica la utilización de un filtro de asbesto, material que presenta riesgos potenciales para la salud pública.

El PSA es un índice de disponibilidad inmediata para las plantas. Sin embargo, en algunos productos, como las rocas fosfóricas aciduladas y los nitrofosfatos, es posible encontrar formas de fósforo que aún no siendo solubles en agua, se consideran *disponibles* o aprovechables para la planta. En esos casos, es frecuente que la respuesta de los cultivos esté ligada más al PD que al PT o al PSA (Prochnow *et al.*, 2001). Entre los métodos que se utilizan para cuantificar esta fracción de fósforo disponible, se encuentran los que emplean citrato de amonio neutro (CAN), ácido cítrico y ácido fórmico como solución extractora. Los dos últimos han sido muy utilizados en estudios relacionados con el potencial agronómico de las rocas fosfóricas tal como lo reseñan Pérez y Smith (2005). No obstante, el extractante más generalizado para cualquier tipo de material es el CAN. Las modalidades analíticas aplicadas por organismos nacionales e internacionales, tienen en común una extracción con citrato de amonio a pH 7, en baño de María a 65°C. A partir de allí hay dos opciones: a) método directo, que indica analizar el P disponible en el extracto y b) método indirecto, mediante el cual se descarta el extracto, se analiza el fósforo insoluble en el residuo que queda después de su filtración y este valor se le resta al fósforo total determinado previamente, para obtener el fósforo disponible o asimilable (AOAC, 1997).

En un estudio interlaboratorio realizado en Venezuela (Carrillo de Cori *et al.*, 2005), en el que se analizaron cinco productos comerciales, representativos de los tipos de fertilizantes existentes para el momento en el mercado nacional (rocas fosfóricas, fosfato de amonio y fertilizantes NPK), se utilizó la modalidad indirecta (COVENIN, 1977) y se encontró que el fósforo disponible en los fertilizantes NPK y fosfato monoamónico resultó igual al PT, ya que no se detectó PI, mientras que en las rocas fosfóricas, sólo una fracción del PT se disolvió en agua y citrato. El rango de variación de los resultados de PI en roca fosfórica (RF) fue menor que en la roca fosfórica acidulada (RFA) lo cual se vio reflejado al calcular la repetibilidad (r) y la reproducibilidad (R) según la norma COVENIN 2972-92 (COVENIN, 1992).

Roca fosfórica:		Roca fosfórica acidulada:	
r = 1,16 %	R = 1,86%	r = 1,47 %	R = 2,49 %

La baja precisión encontrada en el método aplicado, se atribuyó a la excesiva manipulación de la muestra, por lo que se recomendó el estudio de la modalidad analítica según la cual el análisis se hace *directamente* en el extracto en citrato de amonio neutro, con o sin eliminación previa del PSA.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar un método para determinar el fósforo disponible en fertilizantes a través de su extracción en citrato de amonio neutro y su *determinación directa* en el extracto y a la vez estimar la precisión y exactitud del método.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomó como base el “*Método simplificado para determinar fósforo soluble en citrato neutro de amonio mais agua*” (EMBRAPA Solos, 1999). Durante las pruebas preliminares se presentaron algunos inconvenientes relacionados con la curva de calibración y con la coloración que presentaban algunos extractos de muestras comerciales. El primer aspecto se resolvió utilizando la curva de calibración empleada en la determinación de fósforo soluble en agua (Carrillo de Cori *et al.* 2002) y en relación con las soluciones coloreadas, se introdujo la modificación de tratar los extractos con carbón activado libre de fósforo. El método modificado se describe brevemente a continuación: Se pesan 0,5 g de la muestra en un beaker de 100 ml, se añaden 25 ml de la solución de CAN, se hierve suavemente durante 10 minutos, se deja enfriar y se transfiere cuantitativamente a un balón volumétrico de 250 ml y se enrasa.

Si el extracto obtenido contiene material en suspensión, se recomienda filtrar alrededor de 60 ml, antes de hacer el siguiente tratamiento con carbón activado. En un balón aforado de 50 ml se agregan 0,2 g de carbón activado libre de fósforo. Se añade el extracto obtenido previamente hasta el enrase, se agita y se coloca destapado en baño de María a 60 ° C por 20 minutos. Se deja enfriar, se enrasa si es necesario y se filtra una porción suficiente, que permita tomar una alícuota entre 0 y 5 ml, que contenga entre 0,1 y 1,5 mg de fósforo, la cual se transfiere a un balón aforado de 100 ml. Se añade un volumen complementario de solución de CAN diluido 1+9 para completar 5 ml. Se agregan 25 ml de agua destilada y 10 ml de una solución vanadomolibdica. Se enrasa con agua destilada. Se espera 10 minutos y se lee la absorbancia en un espectrofotómetro UV visible a 400 nm. La curva de calibración se obtiene a partir de KH_2PO_4 grado analítico, con un rango de patrones entre 0 y 15 mg.l^{-1} . Se prepara simultáneamente un blanco, que contiene todos los reactivos menos la muestra problema.

En la realización de los ensayos se utilizaron tres fertilizantes comerciales inorgánicos, que corresponden a la siguiente denominación genérica: fosfato diamónico, roca fosfórica acidulada 1 (RFA 1) y Roca fosfórica acidulada 2 (RFA 2). Los materiales analizados en cada laboratorio provenían de una muestra única, previamente homogeneizada para evitar diferencias en cuanto al producto evaluado.

Las determinaciones se llevaron a cabo por el personal técnico y en los laboratorios de cinco instituciones: Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos-Centro de Investigación y Extensión en Suelos y Aguas, EDAFOFINCA, Universidad Central de Venezuela-Agronomía, Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado-Agronomía e Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas-Yaracuy.

El ensayo se estableció como un muestreo irrestricto para factor de efecto fijo, que incluye cinco laboratorios, un método y cuatro productos, resultando 20 extracciones, que repetidas cuatro veces dieron un total de ochenta (80) análisis. A los datos obtenidos se les hizo la prueba de normalidad de Wilk-Shapiro. El análisis de varianza se realizó mediante la prueba de Tukey y para los casos cuando no se encontró una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En el análisis estadístico se utilizó el programa Statistix para Windows, Versión 8 (Statistix 2003). La exactitud del método se evaluó calculando el porcentaje de recuperación del P en el KH_2PO_4 grado analítico, utilizado como estándar. La precisión del método se calculó aplicando la norma COVENIN 2972-92 (ISO 5725-86) (COVENIN, 1992), para evaluar los resultados en términos de repetibilidad (r) y reproducibilidad (R).

RESULTADOS

Los resultados de la aplicación del método directo para analizar fósforo disponible, a tres fertilizantes y un estándar, por los cinco laboratorios, se presentan en el Cuadro 1.

Al aplicar la prueba de normalidad de Wilk-Shapiro a los datos provenientes del análisis de cada producto, solamente las cifras del fertilizante RFA 2, resultaron con una distribución normal y se le aplicó la prueba de medias de Tukey, mientras que los datos de las otras tres muestras, se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, ya que no se distribuyeron normalmente.

Se observa que sólo en el caso del fosfato diamónico, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre laboratorios.

Cuadro 1. Contenido de fósforo (% P₂O₅)* disponible en tres fertilizantes y un estándar, analizados por cinco laboratorios, utilizando el método directo evaluado

Fertilizante	L A B O R A T O R I O S					% P ₂ O ₅ Promedio
	1	2	3	4	5	
Estándar	51,14 b	53,02 a	52,98 a	51,90 ab	52,48 ab	52,30
Fosfato diamónico	39,17 a	39,38 a	39,62 a	39,41 a	37,93 a	39,10
RFA 1	18,27 a	17,55 ab	16,76 bc	18,17 a	16,00 c	17,36
RFA 2	12,17 a	11,79 ab	11,04 b	11,84 ab	10,35 b	11,44

* Promedio de 4 repeticiones

En cada fila, medias seguidas por la misma letra, no son estadísticamente diferentes a un nivel de significación del 5 % según la prueba de medias de Kruskal-Wallis (estándar, fosfato diamónico y RFA 2) o de Tukey (RFA 1).

Exactitud del método evaluado: Los valores de recuperación del fósforo al analizar el estándar, se observan en el Cuadro 2, y varían entre 98,98 % y 102,62 %. Estas cifras se encuentran dentro del rango aceptado, según el criterio de Buresh *et al* (1982), según el cual los resultados se consideran aceptables si la recuperación varía entre $100 \pm 3\%$.

Cuadro 2. Contenido de fósforo disponible *(% P₂O₅), porcentaje de recuperación (Rec.) y Δ100 del % P₂O₅ en el KH₂PO₄, analizado por cinco laboratorios, aplicando el método directo evaluado

Parámetro	Laboratorios					Promedio
	1	2	3	4	5	
% P ₂ O ₅	51,14	53,02	52,98	51,90	52,48	52,304
% Rec	98,98	102,62	102,53	100,44	101,58	101,23
Δ100	-1,02	2,62	2,53	0,44	1,58	1,23

* Promedio de 4 repeticiones

% Rec. = (% P₂O₅/ 52,19X 0,99) X 100

Δ 100 = % Rec. - 100

52,19= % teórico de P₂O₅ en el KH₂PO₄ puro

52,19X 0,99= 51,67 % de P₂O₅ en el estándar utilizado

0,99= factor de corrección de acuerdo a la pureza del estándar utilizado (99, 00 %)

Precisión del método evaluado. Los valores de repetibilidad y reproducibilidad correspondientes a los niveles de P₂O₅ analizados, se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Repetibilidad (r) y Reproducibilidad (R) para distintos niveles de P₂O₅ en tres fertilizantes y un estándar, analizados por cinco laboratorios por el método directo de fósforo disponible

Fertilizante	P₂O₅ (%)	Repetibilidad “r”	Reproducibilidad “R”
Estándar	52,30	0,738	1,60
Fosfato diamónico	39,10	0,795	0,78
RFA 1	17,36	0,583	2,01
RFA 2	11,44	0,395	1,38
Promedio	----	0,6278	1,4430
Coefficiente Correlación (Pearson)	----	0,8687	-0,2906
Probabilidad	----	0,1313	0,7094
Significación	----	NS	NS

NS: No significativo

Al aplicar la norma COVENIN 2972-92 (ISO 5725-86), se encontró que los valores de “r” variaron entre 0,395 y 0,795, no resultando dependientes del nivel de P₂O₅, con un coeficiente de correlación de 0,8687 y una probabilidad de 0,1313, mientras que la “R” varió entre 0,78 y 2,01 y sus valores tampoco estuvieron correlacionados con el contenido de P₂O₅ (Coeficiente de correlación de -0,2906 y probabilidad de 0,7094).

Como se mencionó en la introducción, este estudio se derivó de una recomendación surgida al estudiar el método indirecto (Carrillo de Cori et al, 2005), cuando se encontraron valores promedio de “r” igual a 1,32 y “R” igual a 2,18, usando solo dos fertilizantes y señalándose que el método implicaba mucha manipulación y a ello se le atribuyeron los altos valores de “r” y “R” encontrados, denotando poca precisión. La evaluación que se realizó en el presente estudio mostró valores de “r” (0,6278) y “R” (1,4430), lo que se traduce en una mayor precisión. Por otra parte, el método indirecto involucra dos análisis, mientras que la modalidad directa, como su nombre sugiere, se trata sólo del análisis de un extracto. Esto además de significar un ahorro de tiempo, implica también menor costo por concepto de reactivos y menor posibilidad de desechos contaminantes hacia el ambiente. Es por ello que con base en estos resultados, se sugiere se sugiere este método como alternativa para incluirlo en la Norma venezolana COVENIN

CONCLUSIONES

El método evaluado para determinar el fósforo disponible en fertilizantes a través de su determinación directa en el extracto citrato de amonio neutro, permite la recuperación de este elemento dentro del rango considerado aceptable. La repetibilidad y la reproducibilidad de ese método no resultaron dependientes del contenido de P₂O₅, e indicaron valores promedios menores que los correspondientes al método indirecto tomado como referencia, lo cual se traduce en una mayor precisión en la modalidad directa, que además mostró tener como ventaja un ahorro significativo de tiempo y menor consumo de reactivos. Este método puede ser recomendado como alternativa en la Norma COVENIN.

BIBLIOGRAFÍA

- BURESH, R.J., E.R. AUSTIN AND E.T. CRASWELL. 1982. Analytical Methods in ¹⁵N research. *Fert. Res.* 2:227-245.
- CARRILLO DE CORI, C.E., C.A. ARVELO DE V., M. RUIZ, J.G. ESCALONA, R. GUTIÉRREZ, M. NAVAS, L. CASTILLO, S. FERNÁNDEZ, R. NOGUERA, C. SILVA, E. ARTEAGA, I. E. ARRIECHE, T. DÍAZ, B. ARRIECHE, O. GAMBOA, O. ROJAS Y F. SOSA. 2002. Análisis de fósforo soluble en agua en fertilizantes. *Venesuelos*, 10: 5-12.
- CARRILLO DE CORI, C.E, M. RUIZ, C.A. ARVELO DE VALLS, J.G. ESCALONA, L. CASTILLO, R. NOGUERA, T. DÍAZ, C. SILVA, A. MARTÍNEZ, R. GUTIÉRREZ, M. NAVAS, E. ARTEAGA, S. FERNÁNDEZ, I. E. ARRIECHE, B. ARRIECHE, O. SEQUERA. 2005. Avances en la selección de un método para el análisis de fósforo disponible en fertilizantes. *Memorias del XVII Congreso venezolano de la Ciencia del Suelo, Maracay, estado Aragua.* Formato CD Rom.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 1998. Norma venezolana. Fertilizantes, Enmiendas y acondicionadores de suelos. Definiciones. COVENIN 113:1998 (1ª rev.). FONDONORMA, ASOQUIM, Caracas. 3p
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. EMBRAPA, SOLOS, 1999. Manual de analisis quimicas de solos, plantas e fertilizantes, pp: 242-246
- MINISTERIO DE FOMENTO. COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 1977. Norma Venezolana. Fertilizantes. Determinación del fósforo soluble en citrato. Norma 1131-77. 7 p.
- MINISTERIO DE FOMENTO. COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). 1992. Norma venezolana. Precisión de los métodos de ensayo. Determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad de un método de ensayo normalizado mediante ensayos realizados por diferentes laboratorios. COVENIN 2972-92 (ISO-5725-86). 53p.
- OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL (AOAC). 1997. AOAC official method 963.03. Phosphorus (citrate-insoluble) in fertilizers. Chapter 2. 16th Ed., 3rd rev.. 1997. AOAC International . Gaithersburg, M.D. USA.
- PÉREZ, M. J. Y T.SMYTH. 2005. Potencial agronómico de tres rocas fosfóricas de diferente composición mineralógica. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*
- PROCHNOW, L. I., J. F. DA CUNHA AND A. F. CANDIOTTI V. 2001. Field evaluation of water citrate soluble phosphorus in modified phosphate rocks for soybean. *Scientia Agricola*, 58(1):165-170.
- UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION (UNIDO) AND INTERNATIONAL FERTILIZER DEVELOPMENT CENTER (IFDC). 1998. *Fertilizer Manual.* Kuther Academic Publishers. 615p.