

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE ANÁLISIS EN LA DETERMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DE LOS SUELOS

Isabel Arrieché¹, Magaly Ruíz², Carmen E. Carrillo de Cori³, Marianela León¹, Linda M. Aular³, Rosalba Mora³, Luis Castillo⁴, María R. Tovar², Ayuramy Martínez⁵, Heyra Baptista⁶, Tirso Díaz¹, Carmen Silva¹, Jeglay Cruz⁶, Aura M. Reveron⁵, Nidia Alfonso⁵.

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-Yaracuy, ²Universidad Rómulo Gallegos-CIESA, ³Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, ⁴EDAFOFINCA, ⁵Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-Guárico, ⁶Agri de Venezuela.

ieluna99@hotmail.com

RESUMEN

Se compararon dos métodos (M1 y M2) para la determinación de materia orgánica de los suelos (MO), en laboratorios de suelos de seis instituciones: UCV-Agronomía, INIA-Yaracuy, CIESA-UNERG, EDAFOFINCA, INIA-Guárico y AGRI de Venezuela, con la finalidad de unificar criterios y bajar la dispersión en los resultados analíticos de la MO entre laboratorios. Los métodos están basados en la digestión húmeda con ácido sulfúrico y dicromato de potasio, y cuantificados por espectrofotometría UV-Visible. Las diferencias fundamentales entre métodos, fueron el peso de muestra 0,1g y 0,5g; longitud de onda de 650 y 590 nm; y tiempo de reacción de 3 y 24 horas para M2 y M1 respectivamente. Se utilizaron dos muestras controles con niveles de MO bajo y alto. El análisis estadístico arrojó mayor variabilidad en M2, y mayor precisión en M1, por lo que se recomienda adoptar este último método en los laboratorios de suelos con fines de fertilidad.

Palabras claves: materia orgánica de suelos, métodos de análisis, estudios interlaboratorios

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica (MO) es un componente importante de la calidad del suelo (Doran et. al., 1998). La contribución de la materia orgánica a la productividad de los suelos ha sido reconocida en la agricultura tradicional ya que es la base de su fertilización, de allí la importancia de cuantificar su contenido en el suelo. En la mayoría de los laboratorios de análisis de suelos del país, la materia orgánica se mide por el método de Walkley y Black (1934), el cual consiste en una oxidación parcial del carbono (C) orgánico por la adición de una mezcla ácida de dicromato de potasio, sin la aplicación externa de calor. Sin embargo las diferencias en el procedimiento analítico en cada laboratorio, tales como el peso de muestra, longitudes de ondas, tiempo de reacción, instrumentos de medidas entre otros, generan valores de MO dispersos, que a su vez conllevan a interpretaciones distintas desde un punto de vista de fertilidad. En este sentido en los laboratorios participantes en el GIUMA (Grupo Interinstitucional para Uniformar Métodos Analíticos) se discutió la necesidad de hacer una revisión de los métodos que se estaban utilizando. Se detectó que el fundamento de los métodos era el mismo, digestión húmeda según Walkley y Black (1934), determinación por espectrofotometría (UV-visible) y el uso de los factores de conversión de 1,333 y 1,742 para emitir los valores de porcentaje de MO. No obstante se encontraron diferencias fundamentales en: peso de la muestra, entre 0,1g y 0,5 g; longitud de onda (λ) entre 590 nm y 650 nm y

tiempo de reacción: entre 3 y 24 horas. En este estudio se seleccionaron dos de los métodos rutinarios participantes que presentaron variaciones extremas en las diferencias antes mencionadas, para comparar los valores de carbono orgánico generados por seis laboratorios, con el propósito de unificar criterios y obtener resultados analíticos confiables en los contenidos de materia orgánica de los suelos agrícolas venezolanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio participaron seis laboratorios que analizan en forma rutinaria el contenido de materia orgánica en el suelo: Universidad Central de Venezuela-Agronomía, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-Yaracuy, Universidad Rómulo Gallegos-CIESA, EDAFOFINCA, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-Guárico y AGRI de Venezuela. Entre los métodos utilizados por esos laboratorios se seleccionaron para la comparación los dos procedimientos que presentaban mayores diferencias, los cuales se distinguieron como método M1 y método M2; y se estableció de acuerdo a las pruebas preliminares un valor de longitud de onda de 590 nm para ambos. Los métodos consistieron en:

Método M1: Pesar 0,5000g $\pm$ 0,0050g de cada una de las muestras de suelo seco al aire en balón aforado de 50 mL, añadir 5 mL de solución de dicromato de potasio 1N, rotar suavemente el frasco para mezclar bien, agregar 10 mL de ácido sulfúrico concentrado 96%-98% p/p, y agitar nuevamente durante 5 a 10 segundos. Luego agregar agua destilada cercano al enrase, en el mismo orden en que se agregó el ácido a las muestras. Dejar en reposo 3 ó 4 horas y enrasar a 50 mL con agua destilada, mezclar y dejar en reposo durante la noche. Al día siguiente trasvasar el sobrenadante transparente a las celdas y leer a la longitud de onda (λ) de 590 nm en espectrofotómetro UV-Visible. Previamente preparar patrones en balones de 50 mL que contengan 0,0000; 1,0876; 2,1753; 4,3506; 6,5259; 8,7012; 10,8765; 13,0518 y 17,4024 mg C; a partir de una solución patrón de Sacarosa o Glucosa equivalente a 2,1753 mg C/mL Agregar en forma sucesiva 5 mL de dicromato de potasio 1N, 10 mL de ácido sulfúrico y luego aforar a 50 mL con agua destilada con igual procedimiento que con las muestras. Dejar en reposo hasta el día siguiente y leer en espectrofotómetro UV-Visible a λ de 590 nm en orden ascendente. El % MO se calculó según la fórmula: %MO = [Lect. Absorb.- Intercepto Curva calib.]* (1,3333)* (1,724)*(100) / [Pendiente de la Curva calib.*Pm*1000], donde Pm = Peso de muestra, 1,333 = Factor resultante de la consideración que la oxidación promedio del carbono por este método es del 75% y 1,724 = Factor de Van Bemmelen para convertir el carbono orgánico (CO) en materia orgánica.

Método M2: Macerar 1,00 g de muestra de suelo y pesar 0,10 g; transferir a tubo de ensayo y adicionar 1 mL de agua destilada. Previo se preparan patrones de 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 y 3,00 mg de CO/mL a partir de una solución de glucosa que contiene 10 mg CO/mL. Luego se toma 1 mL de cada una de las soluciones patrones y 1 mL de agua destilada para realizar el blanco de la determinación. Se añade a cada uno de los tubos de ensayo (muestra, patrones y blanco) 2 mL de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) al 8% y 3,0 mL del ácido sulfúrico concentrado. Se deja enfriar por 2 a 3 horas y se agrega a cada tubo 10 mL de agua destilada. La muestra se centrifuga durante 10 minutos a 2500 rpm. El sobrenadante de la muestra centrifugada se pasa a tubo de espectrofotómetro al igual que los patrones y el blanco. Se hacen las lecturas en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 590 nm. El % MO se calculó según la fórmula: %MO = [Lect. Absorb.- Intercepto Curva calib.]* (1,3333)* (1,724)*(100) / [Pendiente de la Curva calib.*Pm*1000], donde Pm = Peso de muestra, 1,333 = Factor resultante de la

consideración que la oxidación promedio del carbono por este método es del 75% y $1,724 = \text{Factor de Van Bemmelen}$ para convertir el carbono orgánico en materia orgánica.

Se escogieron dos muestras de suelos, una con bajo (mB) y otra con alto contenido en MO (mA). Éstas fueron suministradas por el Laboratorio de suelo del INIA Yaracuy preparadas y manejadas de acuerdo a Cabrera (2003) y siguiendo el protocolo ISO-REMCO N280 (2006), para el establecimiento de sus límites de confianza. Su ubicación y características físico químicas se presentan en el Cuadro 1. Las muestras fueron analizadas por cuadruplicado por cada laboratorio.

Cuadro 1. Ubicación y características físico químicas de los suelos de referencia

Muestra	Ubicación	Textura	pH	CE (dS.m ⁻¹)	Materia Orgánica (%)	
					Límite Inferior	Límite Superior
mA	Jurimiquire Estado Yaracuy	FAL	7,7	0,410	4,84	5,14
mB	Joboliso Estado Yaracuy	Fa	6,1	0,080	1,32	1,44

Los resultados de la comparación experimental, se procesaron con el Programa Statistix para Windows, versión 8 (Statistix, 2003) y así se analizaron las diferencias obtenidas entre laboratorios y entre métodos. Para estudiar la precisión en términos de repetibilidad (r) y reproducibilidad (R), se aplicó la Norma COVENIN 2972-92 (ISO 5725-86) (COVENIN, 1992).

RESULTADOS

Las pruebas preliminares consistieron en uniformar el criterio de la longitud de onda, mediante un barrido en el espectro comprendido entre 550 y 650 nm con seis patrones de carbono orgánico (P1 a P6), que permitió corroborar que la mayor absorbancia se encontró a la longitud de onda de 590 nm (Figura 1), resultado que coincide con el encontrado por Arrieche y Pacheco (2000), cuando compararon la técnica analítica de valoración del carbono orgánico con el medido en un espectrofotómetro UV-Visible.

Los promedios del % MO de cuatro repeticiones y su desviación estándar, por laboratorio, muestra y métodos de análisis se presentan en el Cuadro 2. Se aprecia que los valores obtenidos por el método M1, son superiores a los del método M2, estas diferencias fueron pequeñas en la muestra con nivel bajo de MO, y mayores en el caso de la muestra con alto contenido de MO. El análisis estadístico reveló que las mismas eran significativas al nivel de probabilidad de 0,05 entre métodos (Cuadro 3).

Al comparar los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios, las diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0,05$) solamente para la muestra con bajo contenido de MO (Cuadro 3), lo que es lógico suponer ya que los errores relativos en los análisis espectrofotométricos están asociados al peso de la muestra, a los instrumentos de medición y al rango de operación de concentración de los patrones en el uso de la ley de Beer (Skoog et.al., 2004), estos errores son a su vez mayores cuando intervienen diferentes laboratorios.

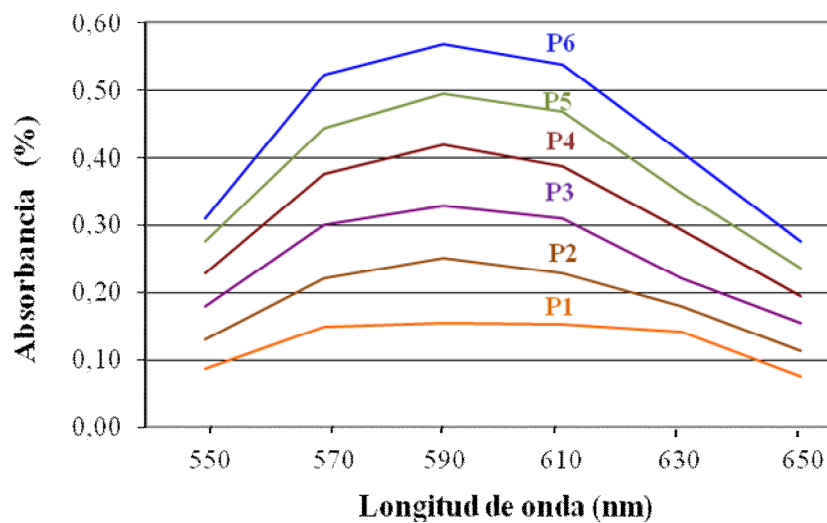


Figura 1. Barrido de espectro obtenido con seis patrones (P1 a P6) de carbono orgánico entre el rango de de longitud de onda (λ) de 550 a 650 nm.

Cuadro2. Promedio (n=4) del contenido de MO (%) y desviación estándar, por laboratorio (L1 a L6), muestra (mB y mA) y métodos de análisis (M1, M2).

Laboratorio	Método	Promedio de MO (%) $\pm$ desviación estándar/Muestra	
		mB	mA
L1	M1	1,63 $\pm$ 0,01	5,49 $\pm$ 0,01
	M2	1,53 $\pm$ 0,01	3,90 $\pm$ 0,08
L2	M1	1,60 $\pm$ 0,26	4,76 $\pm$ 0,16
	M2	1,44 $\pm$ 0,21	3,50 $\pm$ 0,34
L3	M1	1,37 $\pm$ 0,06	4,76 $\pm$ 0,15
	M2	1,26 $\pm$ 0,45	3,32 $\pm$ 0,26
L4	M1	1,19 $\pm$ 0,01	5,24 $\pm$ 0,00
	M2	1,11 $\pm$ 0,05	3,75 $\pm$ 0,05
L5	M1	1,88 $\pm$ 0,05	5,04 $\pm$ 0,28
	M2	1,09 $\pm$ 0,03	3,83 $\pm$ 0,08
L6	M1	1,45 $\pm$ 0,09	4,85 $\pm$ 0,23
	M2	1,17 $\pm$ 0,10	3,39 $\pm$ 0,29

Cuadro 3. Resumen del análisis de varianza de los métodos analíticos y laboratorios considerados para los resultados de la determinación de materia orgánica en suelos.

Fuente de variación	Nivel de materia orgánica en el suelo	
	Nivel Bajo (mB)	Nivel Alto (mA)
Métodos	*	*
Laboratorios	*	NS

NS: diferencias no significativas. * Diferencias significativas al 5%.

Con respecto a la precisión, los parámetros de repetibilidad y reproducibilidad en la mayoría de los casos, fueron menores en el M1, indicando una mayor precisión de este método (Cuadro 4).

Cuadro 4. Valores de repetibilidad (r) y reproducibilidad (R) de los métodos evaluados (M1 y (M2) en la determinación de la MO entre los laboratorios.

Método	Muestra de suelo			
	mB	mB	mA	mA
	r	R	r	R
M1	0,147	0,482	0,7046	0,9240
M2	0,166	0,614	0,8098	0,8685

CONCLUSIONES

El método M2 contempla la medición de volúmenes muy pequeños de reactivos para la elaboración de la curva de calibración y los instrumentos empleados en este caso no tienen la precisión adecuada para garantizar un margen aceptable de error experimental. De igual forma la utilización de pesos de muestras reducidos (0,1 g) conduce a resultados dispersos demostrados en la ronda experimental. El método M1 arrojó en todos los casos, muestras y laboratorios, valores de materia orgánica más exactos al comparar con el valor medio de límite de confianza establecido como muestra control y una mayor precisión y menor variabilidad entre laboratorios.

RECOMENDACIONES

El método M1 se adapta mejor a las condiciones de un laboratorio de rutina, por lo que se recomienda sea adoptado en los laboratorios de análisis de suelos para la determinación de materia orgánica con fines de fertilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- ARRIECHE I., PACHECO Y. (2000). Determinación de carbono orgánico en muestras de suelos mediante dos procesos analíticos. *Venesuelos* 6: 9-13.
- CABRERA E. (2003). Preparación de muestras de referencia de suelo. Laboratorio UNILAB, Ceniap, Maracay.
- COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN) (1992). Norma COVENIN N° 2972-92 (ISO 5725-86) "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". Caracas. 53 p.
- DORAN J.W., ELLIOTT, E.T., PAUSTIAN K. (1998). Soil microbial activity, nitrogen cycling, and long-term changes in organic carbon pools as related to fallow tillage management. *Soil & Tillage Research*. 49, 3-18.
- ISO-REMCO N280, (2006). The Internacional Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories (IUPAC Technical Report), *Pure & Appl. Chem.*, 78(1):145-196
- SKOOG W., WEST D.M., HOLLER F.J., CROUCH H. (2004). Aplicaciones de los métodos espectroscópicos atómicos y moleculares. En: *Química Analítica*, 7ª. Ed. MCGRAW-HILL. Cap. 23, pp: 614-656.
- STATISTIX (2003). STATISTIX for Windows version 8.0. User's Manual. Analytical Software. Tallahassee, FL, USA.
- WALKLEY A., BLACK I. (1934). An examination of the Degitjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a la auxiliar de laboratorio de suelos del INIA Yracuy, Marisabel Cárdenas por su colaboración en los análisis realizados.