



A.L.A.P.



Evaluación de la metodología analítica utilizada para determinar Fósforo Extraíble en muestras de Suelos

Ing. Agr. Valeria Bortolotti

Comisión de Suelos

A.L.A.P.

**Asociación de Laboratorios
Agropecuarios Privados**



A.L.A.P.



Breve descripción Método Bray Kurtz 1 modificado

Norma IRAM-SAGPyA 29570-1
Esquema 2 (Septiembre 2009)

**Extracción con solución de fluoruro de
amonio- ácido clorhídrico**



A.L.A.P.

Objeto de aplicación (1)

- Evaluar la fertilidad fosforada edáfica
- Aplicable a suelos levemente ácidos





Norma IRAM-SAGPyA 29570-1

Documentos normativos consulta (2)

Definiciones (3)



Principio (4)

El ensayo comprende 2 etapas:

- Extracción
- Determinación espectrofotométrica





Norma IRAM-SAGPyA 29570-1

Principio (4)

EXTRACCIÓN:

Solución de **fluoruro de amonio** y **ácido clorhídrico**, remueve del suelo las **formas de fósforo fácilmente solubles en ácidos** (fosfatos de calcio, hierro y aluminio).

Principio (4)

DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA:

Los iones **fosfatos** al reaccionar con una solución ácida que contiene iones molibdato y antimonio forman una **molécula compleja ácida de fosfato-molibdato-antimonio**, que en presencia de ácido ascórbico se reduce y desarrolla un **color azul** de intensidad proporcional a la concentración de iones



A.L.A.P.



Reactivos (5)

SOLUCIÓN EXTRACTORA

Fluoruro de amonio 0,03 mol/L

Y

Ácido Clorhídrico 0,025 mol/L

Ajustar el pH a 2,6

(hidróxido de amonio y ácido clorhídrico diluído)



A.L.A.P.



Reactivos (5)

SOLUCIONES PARA COLORIMETRÍA

SOLUCIÓN A:

Ácido Sulfúrico (48 ml \pm 2 ml)

Molibdato de Amonio (4,3 g \pm 0,02 g)

Tartrato de antimonio y potasio(0,1 g \pm 0,02 g)
a 1000 ml con agua desionizada

SOLUCIÓN B:

Ácido ascórbico (0,2 g \pm 0,02 g) en 100 ml agua
desionizada

+ 50 ml. SOLUCIÓN A

Llevar a vol final 200 ml.

Se prepara inmediatamente antes de su uso



A.L.A.P.



Norma IRAM-SAGPyA 29570-1

Reactivos (5)

SOLUCION DE REFERENCIA: 100 mg/L P

Dihidrógeno fosfato de potasio (0,44 g \pm 0,003 g)
secado en estufa (40 0 105 °C??)

Ácido sulfúrico (5 ml \pm 0,2 ml)
a 1000 ml con agua desionizada

SOLUCIONES DE REFERENCIA COMERCIALES

- CONCENTRACIÓN CONOCIDA
- CERTIFICADAS
- TRAZABLES (NIST)

Ej: 1000 $\mu\text{g/ml}$ $\text{PO}_4(3-)$ ($\pm 2 \mu\text{g}$ - 20 °C)



"Tailor made reagents"
CHEM LAB NV
Industrieterrein "De Arend" 2 B-8210 ZEDELGEM
Tel.: (32)-50-288320 Fax.: (32)-50-782654

PRODUCT ANALYSIS CERTIFICATE

Date :	09-09-2008
Kind :	Phosphate standard solution (len ECON)
Art. Nr. :	CLD1.0625
Lof. Nr. :	16.0920909.10
Batch :	1011
Origin :	CHEM-LAB n.v.
Composition :	1.032 g H_3PO_4 / l H_2O
Use :	Solution contains 1.000 $\mu\text{g/ml}$ of $\text{PO}_4(3-)$ ($\pm 2 \mu\text{g}$ - 20°C)
Check :	Reference standards acc. NIST SRM 3196
Result :	conform specifications
Measured value :	999,4 mg/l
Exp. date :	09-2011
Density :	0,998 g/ml - 20°C

Reactivos (5)

SOLUCIONES DE CALIBRACIÓN (TIPO)

- Mínimo 5 soluciones
- Entre 0 y 7 $\mu\text{g/ml}$ de P
- A partir de la Solución de Referencia
- Con solución extractora



A.L.A.P.



Instrumental (6)

Material de vidrio uso habitual (limpio, seco, libre de P)

Agitador de vaivén regulable 180 gpm

Balanza analítica

Balanza precisión 0,01 g

Centrífuga

Dosificadores

Espectrofotómetro

Medidor de pH

Papel de Filtro (libre de fosfato)

Tubos de centrífuga 50 ml con tapa

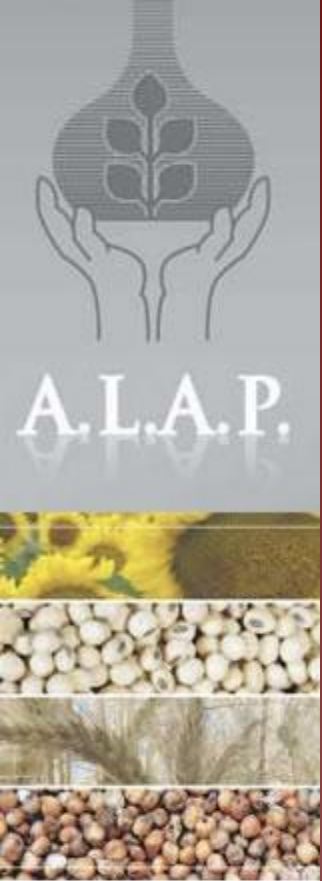


A.L.A.P.



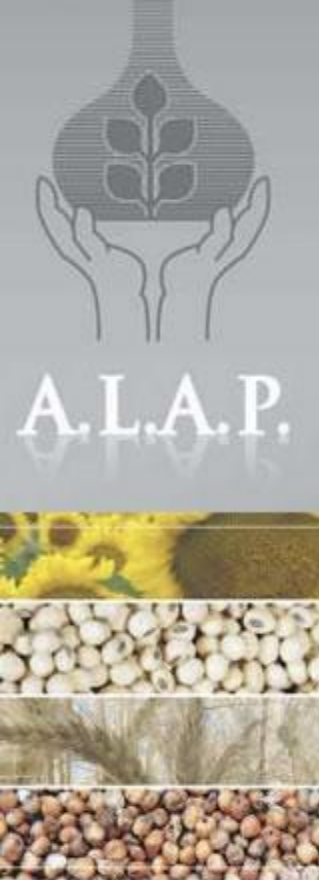
Condiciones de Trabajo (7)

- Ambientes ventilados
- Temperaturas 20 a 25 °C



Preparación de la muestra (8)

- **IRAM-SAGPyA 29578** (Pretratamiento muestras de suelo de uso agropecuario...)
- Porción representativa
- Secada
- Tamizada 2 mm



Procedimiento (9)

Extracción (9.1)

- Relación Suelo: Solución **1:7 (m/V)**.
- Peso: **2 g ± 0,1 g** muestra en tubo centrífuga (50 ml. c/tapa).
- Agregar **14 ml ± 0,5 ml** solución extractora.
- Agitar en el sentido del vaivén **5 minutos**.
- Paralelamente desarrollar ensayo en blanco.



A.L.A.P.





Norma IRAM-SAGPyA 29570-1

Procedimiento (9)

Extracción (9.1)

NOTA 1: Se obtienen valores de P extraíble comparables:

- **2,5 g** suelo.
- Tamizado por **0,5 mm**.
- Tubos de 50 ml fondo no cónico.
- **20 ml solución extractora**.....Relación **1:8 (m/V)**.
- Tubos en posición **vertical**
- **5 minutos**

Procedimiento (9)

Cuantificación (9.2)

- **Alícuota del extracto** de muestra: **1 ml** \pm 0,02 ml
- Colocar en **tubo de ensayo**.
- Agregar **9 ml** \pm 0,2 ml **solución reactiva B**.
- **Homogeneizar**.
- Esperar **mínimo 30 minutos para desarrollo de color**
(el complejo color azul **es estable por 24 hs.**)
- **Leer absorbancia en espectrofotómetro 882 nm** (se puede emplear **720 nm** aceptando pérdida de sensibilidad y verificando linealidad)



A.L.A.P.



Procedimiento (9)

Cálculo (9.3)

- Gráfica y analíticamente a partir de la curva de regresión
- Ecuación:

$$P (\mu\text{g/g o ppm})= (P \text{ alíc}(\mu\text{g}) \times V \text{ ext} \times F) / (m \times V \text{ alíc})$$

$$\text{Ej: } P (\mu\text{g/g})= P(\mu\text{g}) \times 14 \text{ ml} \times 1 / (2 \text{ g} \times 1 \text{ ml})$$

$$P (\mu\text{g/g})= P \times 7 \mu\text{g/g}$$

F: Factor de dilución: debe diluirse el extracto original y repetir el procedimiento, si la absorbancia de la muestra es mayor que la lectura de la solución de calibración de mayor concentración



A.L.A.P.





A.L.A.P.

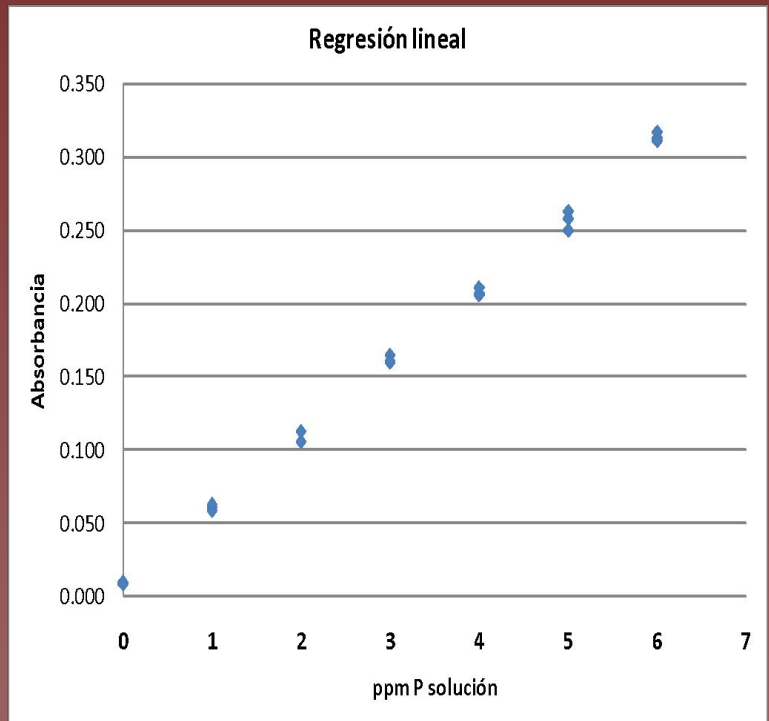
Cálculo: Regresión lineal

$$Y = B + A \times X$$
$$\text{Abs} = B + A \times \text{ppm P}$$
$$\text{ppm P} = (\text{Abs} - B) / A$$

A	0.0500833	SA	0.0004
B	0.0099881	SB	0.0015



ppm P	m	P solución ppm Xi	Absorbancia yi
0	1	0	0.009
0	2	0	0.010
0	3	0	0.009
7	4	1	0.061
7	5	1	0.059
7	6	1	0.063
14	7	2	0.113
14	8	2	0.113
14	9	2	0.106
21	10	3	0.160
21	11	3	0.165
21	12	3	0.161
28	13	4	0.206
28	14	4	0.207
28	15	4	0.211
35	16	5	0.258
35	17	5	0.250
35	18	5	0.263
42	19	6	0.313
42	20	6	0.317
42	21	6	0.311





A.L.A.P.



Cálculo: Regresión lineal

MUESTRA

Muestra	Absorbancia
Rep 1	0.188
Rep 2	0.197
Rep 3	0.204

S x/y 0.00376

RESULTADOS

Muestra	ppm P suelo
Rep 1	24.81
Rep 2	26.14
Rep 3	27.12
MEDIA	26.02

C.V. 4.22%

INCERTIDUMBRE 0.69

LOD 1.27

LOQ 3.68



A.L.A.P.



Encuesta sobre detalles metodológicos

Método Bray Kurtz 1

Análisis de los resultados

Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos



PARTICIPANTES

•N° laboratorios participantes PROINSA 2010: **69**

•N° laboratorios que respondieron la encuesta: **36**



Encuesta PROINSA 2010

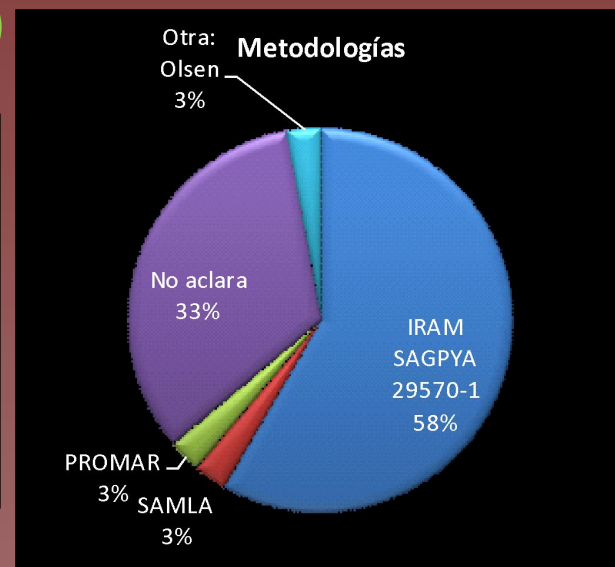
Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

1- Metodología utilizada

- IRAM SAGPyA 29570-1 21 lab (58%)
- SAMLA 1 lab (3%)
- PROMAR 1 lab (3%)
- Bray Kurtz (no aclaran) 12 lab (33%)
- Otro: OLSEN 1 lab (3%)

No se considerará el laboratorio que utiliza Olsen por tratarse de otro método de extracción

Total laboratorios considerados: 35



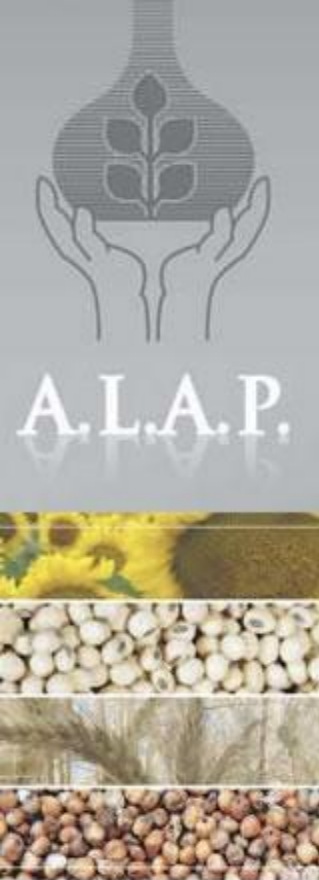
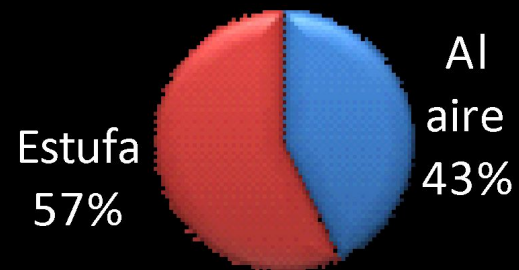
Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

2- Secado de la muestra

- **Al aire..... 15 lab (43%)**
- **En estufa (T° menor a 40 °C)... 20 lab (57%)**

Secado muestra



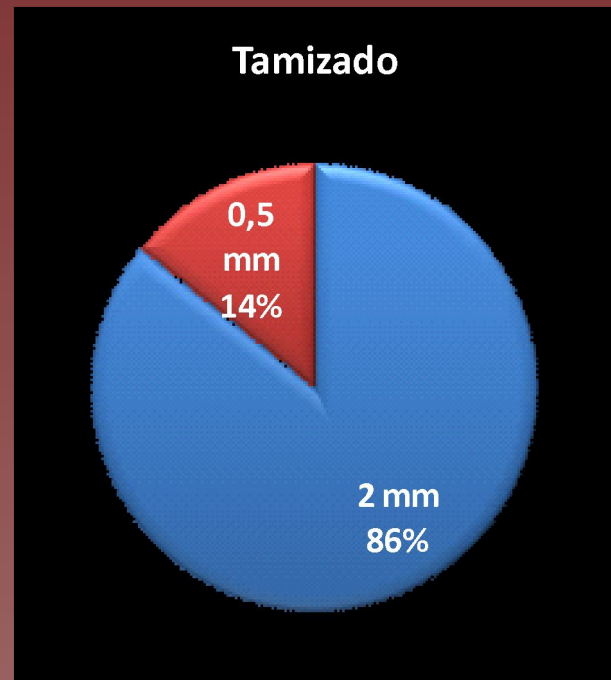


Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

3- Tamizado de la muestra

- **2 mm**..... **30 lab (86%)**
- **5 mm**..... **5 lab (14%)**





Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

4- Relación Suelo: Extractiva

- **Relación 1:7..... 23 lab (66%)**
- **Relación 1:8..... 12 lab (34%)**



Relación 1:7	Nº Laboratorios	%
2 g suelo: 14 ml extr.	16	46
1 g suelo: 7 ml extr.	4	11
2,85 g suelo: 20 ml extr.	2	6
2,43 g suelo: 10 ml extr.	1	3

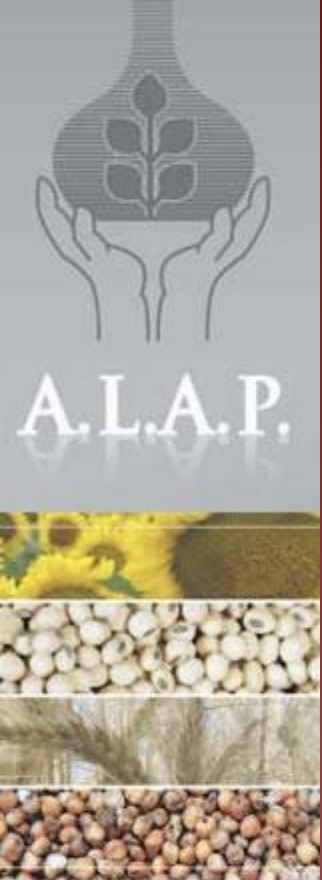
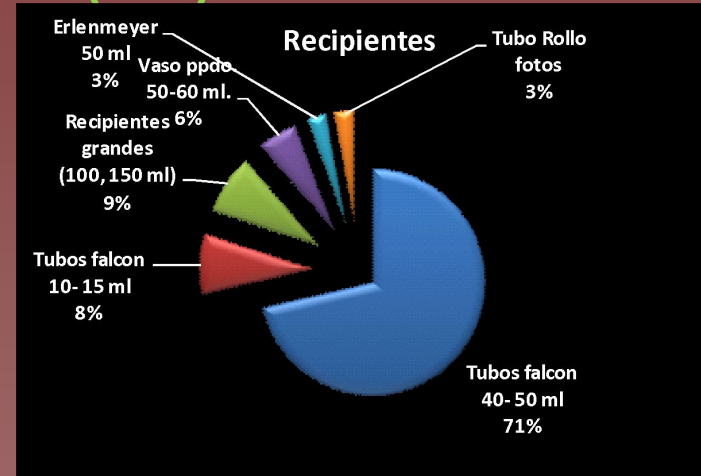
Relación 1:8	Nº Laboratorios	%
2,5 g suelo: 20 ml extr.	12	34

Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

5- Recipientes

- Tubos falcon 40–50 ml..... 25 lab (71%)
- Tubos falcon 10–15 ml..... 3 lab (9%)
- Recipientes 100-150 ml..... 3 lab (9%)
- Vaso ppdo 50-60 ml..... 2 lab (6%)
- Erlenmeyer..... 1 lab (3%)
- Tubo rollo fotos..... 1 lab (3%)



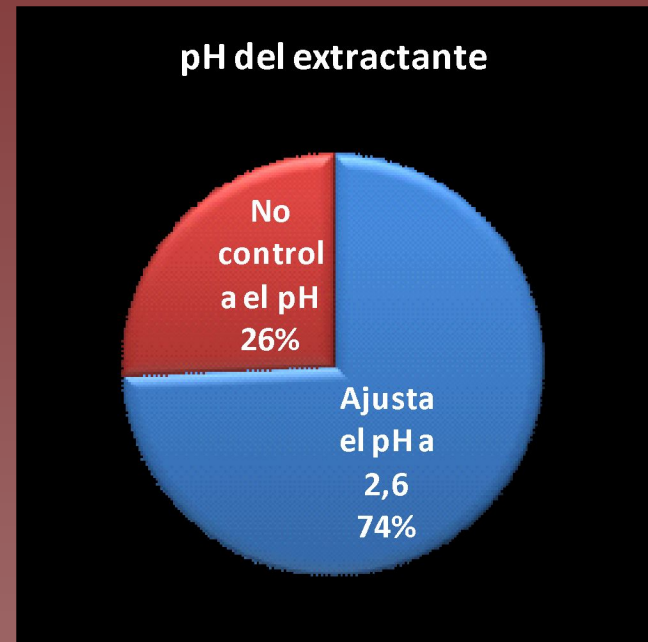


Encuesta PROINSA 2010 Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

6- Extractante: control del pH

FINH4 0,03 N + HCl 0,025 N

- **Ajusta pH a 2,6..... 26 lab (74%)**
- **No controlan el pH..... 9 lab (26%)**



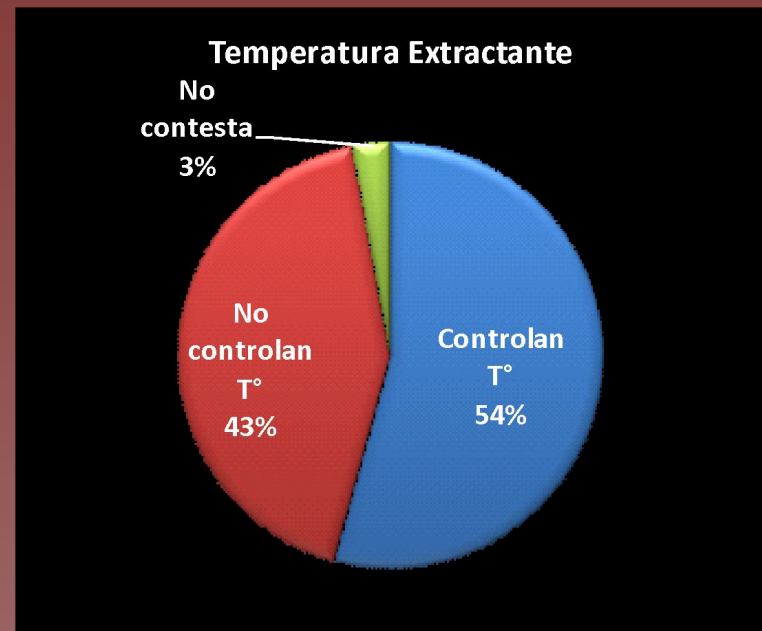


Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

6- Extractante: control de temperatura

- **Controlan la temperatura..... 19 lab (54%)**
- **No controlan la T° 15 lab (43%)**
- **No contestan..... 1 lab (3%)**





Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

7- Tiempo de extracción

- **5 minutos**..... **32 lab (91%)**
- **1 minutos**..... **1 lab (3%)**
- **6 minutos**..... **1 lab (3%)**
- **No contestan**..... **1 lab (3%)**





Encuesta PROINSA 2010

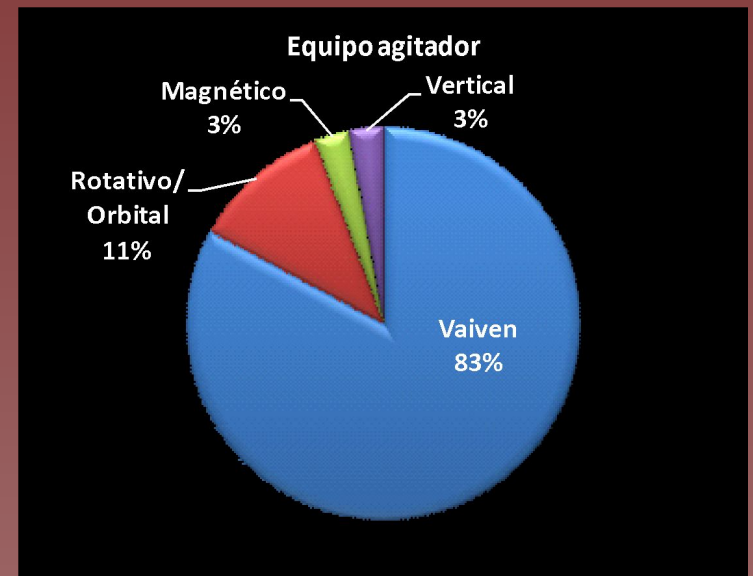
Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

8- Agitación

- **Vaivén 180 gpm**..... **29 lab (83%)**
- **Rotativo / Orbital 180-200 gpm**... **4 lab (11%)**
- **Magnético**..... **1 lab (3%)**
- **Vertical**..... **1 lab (3%)**



Posición recipientes	N° Laboratorio	%
Horizontal	29	83
Vertical	6	17





Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

9- Separación del extracto

- **Centrifugado**..... **22 lab (63%)**
- **Filtrado**..... **13 lab (37%)**





Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

10- Colorimetría

Alícuota muestra (ml)	Solución colorimétrica (ml)	N° Laboratorio	%
1	9	26	74
5	8	5	14
1	10	2	6
2	0,1	1	3
2,5	17,5	1	3



Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

11- Solución colorimétrica

Solución colorimétrica	N° Laboratorios	%
IRAM SAGPYA 29570-1	19	54
SAMLA	7	20
INTA?? (soluciones por separado)	5	14
OTRO (sin Tartrato de Sb y K)	1	3
OTRO con Cl_2Sn (PROMAR)	1	3
Con ácido bórico	1	3
OTRO	1	3



Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

12- Tiempo desarrollo color

Tiempo desarrollo color	N° Laboratorios	%
10 min	1	3
20 min	5	14
25 min	1	3
30 min	19	54
40 min	1	3
1 hora	8	23





Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

13- Tiempo máximo de medición

Tiempo máx. medición	N° Laboratorios	%
1 a 2 horas	7	20
3 a 5 horas	5	14
12 horas	1	3
24 horas	20	57
No responde	2	6



Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

14- Solución de Referencia

Solución de Referencia	N° Laboratorios	%
100 mg/L P preparada (0.44 g KH ₂ PO ₄)	22	63
50 mg/L P preparada (0.2195 g KH ₂ PO ₄)	6	17
25 mg/L P preparada (0.110 g KH ₂ PO ₄)	1	3
1000 mg/L PO ₄ (3-) preparada (1.032 g H ₃ PO ₄)	2	6
Soluciones Comerciales (mg/L PO ₄ (3-))	3	9
Suelo patrón	1	3



Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

15- Soluciones de trabajo (Tipo)

Soluciones de Trabajo	Nº Laboratorios	%
0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 mg/L P	2	6
0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 mg/L P	1	3
0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mg/L P	17	49
0, 2,5; 5; 7,5; 10 mg /L P	1	3
0, 1, 2, 4, 6 // 1, 2, 4 y 5// 1, 3 y 5 // 0,5; 1, 3, 5, 7, 10 mgP/L	9	26
0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mg/L PO ₄ (3-)	3	9
4,37; 8,75; 17,5 ppm P	1	3
4, 8, 16, 24, 32 y 40 ppm P	1	3

Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

16- Equipo de medición

- **Espectrofotómetro..... 31 lab (89%)**
- **Fotocolorímetro..... 3 lab (9%)**
- **Fotómetro..... 1 lab (3%)**





Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelos

17- Longitud de onda de medición

Longitud de onda de medición	N° Laboratorios	%
882 nm	21	60
880 nm	2	6
670 nm	3	9
660 nm	8	23
650 nm	1	3



A.L.A.P.



Encuesta PROINSA 2010 Metodología Fósforo Extraíble en Suelo

CONSIDERACIONES

SOLUCIONES DE CALIBRACIÓN (TIPO):

- La norma pide **AL MENOS 5 puntos** de calibración.
- Cuando la solución de referencia es de **PO₄(3-)**, hacer la conversión a P.
- Cuando la solución más concentrada tiene baja concentración (ej. 3 mg P/L), si la absorbancia de la muestra supera el valor de ésta, deberá diluirse la muestra.
- Para verificar linealidad, algunos métodos estadísticos piden **puntos de calibración equidistantes**.



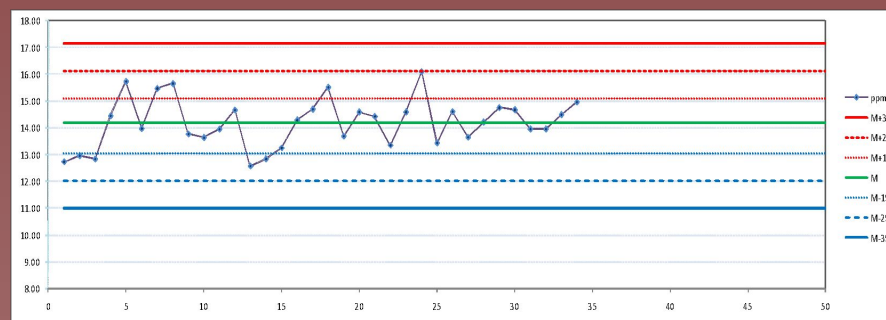
Encuesta PROINSA 2010

Metodología Fósforo Extraíble en Suelo

CONSIDERACIONES

MUESTRA DE SUELO COMO PATRÓN INTERNO:

- Un patrón interno de suelos permite hacer el seguimiento de toda la metodología (desde la extracción), permitiendo detectar errores en cualquier parte del proceso.
- El uso de **“CARTAS DE CONTROL”** es una herramienta fundamental para el control de la calidad analítica de las mediciones.
- **SUGERENCIA:** utilizar el sobrante de muestra de los interlaboratorios como patrones internos.





A.L.A.P.

¡Muchas Gracias !

