

METODOS RAPIDOS PARA LA DETERMINACION DE NITRATO EN SUELOS

C VIDELA, H ECHEVERRIA

Unidad Integrada EEA INTA Balcarce - FCA-UNMP. CC 276 (7620) Balcarce, Argentina

QUICK METHODS TO ESTIMATING NITRATE CONTENTS IN SOILS

Two quick methods used to quantify nitrate contents in soil were compared ; both Nitratechek (NCH) and Agrilab (AG) employ reactive strips and reflectometer, and were compared with a modified colorimetric method of fenoldisulfonic acid (FDS). Fitting curves for the three methods were set up using standard nitrate solutions. Twenty five surface air-dried soil samples belonging to Buenos Aires Province (Argentina) crop soils were analyzed. Fitting curves for the three methods showed very high adjustment ($r^2 > 0.99$). Mean values for AG and FDS did not differ (30.1 and 30.6 mg N-NO₃ kg⁻¹, respectively), but NCH was lower (24.7, $P < 0.05$). Regression coefficients (b) relating the quick and FDS methods were higher than 0.94, but b for AG was higher than b for NCH, thus explaining NCH lower values.

Key words: Nitrate, Soils, Quick methods, Comparison

INTRODUCCION

El incremento en el precio internacional de los granos en los últimos años y el menor costo relativo de los fertilizantes nitrogenados ha ocasionado un aumento en el consumo de fertilizantes (SAG y P 1995) y con él se ha popularizado entre los productores del área cerealera, la necesidad de un diagnóstico adecuado de los requerimientos de nitrógeno de los cultivos a través del análisis de suelo. También, es importante considerar en la determinación de la dosis y momento de fertilización, al riesgo de contaminación de napas a través del lavado de nitratos originado probablemente en fertilizaciones excesivas en momento inoportunos. En aguas de molinos del partido de Gral. Balcarce se han encontrado valores máximos de 30 mg L⁻¹ de N-NO₃ (Costa, Vidal 1998), los que superan largamente el umbral aceptado internacionalmente de 10 mg L⁻¹ para que las aguas sean aptas para consumo humano (USEPA 1984) y que marcan la potencialidad del riesgo de contaminación.

Los análisis de suelos con fines de diagnóstico de fertilización se llevan a cabo principalmente en laboratorios públicos y privados por métodos convencionales de laboratorio, en los que el período de obtención de resultados oscila entre 6 y 20 días, lo que resulta en ocasiones en un desfasaje entre la necesidad del cultivo en el momento de extracción de la muestra y la disponibilidad de los nutrientes aportados por fertilización como resultado del diagnóstico. Actualmente, se ofrecen en el mercado distintos aparatos para el análisis de algunos elementos nutritivos o propiedades químicas del suelo, que permiten una evaluación rápida de los mismos. Estos métodos, entre los que se destaca la determinación del contenido de nitratos en suelo, han sido empleados tanto para suelos (Hartz 1994) como

para aguas (Phillips *et al.* 1995) o material vegetal (Nitsh, Varis 1991). Para mejorar el manejo de la fertilización nitrogenada se ha propuesto el empleo de bandas reactivas como técnica de monitoreo a campo (Hartz 1994). Más aún, integrando esta información con un adecuado conocimiento de las tasas de mineralización, desnitrificación y consumo de N por las plantas, se pueden planificar aplicaciones tácticas de nitrógeno (Titchen, Scholefields 1992).

En los métodos que utilizan bandas reactivas los nitratos son reducidos a nitritos, los que en presencia de un tampón ácido, reaccionan con una amina aromática dando una sal de diazonio. Esta reacciona con N-(1-naftil)-etilendiamina dando un azocolorante violeta rojizo, cuya concentración se determina por reflectometría.

El objetivo de este trabajo fue evaluar dos métodos rápidos que podrían ser utilizados para la cuantificación del contenido de nitratos en suelos y compararlos con un método de rutina de laboratorio.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó como método de referencia para la determinación de nitratos una modificación del colorimétrico del ácido fenoldisulfónico FDS (Sbaraglia *et al.*, 1988), que se emplea como método de rutina en el Laboratorio de Suelos de la EEA Balcarce. Los dos métodos rápidos evaluados fueron: Nitratechek (NCH) y Agrilab (AG), los que emplean bandas reactivas Merk código 10020 y 16971, respectivamente. El rango de lectura de NCH es de 0 a 420 mg kg⁻¹ de nitrato y el de AG de 5 a 225 mg kg⁻¹. Se efectuaron curvas de calibración en los tres métodos con una soluciones patrón de KNO₃.

Se trabajó sobre 25 muestras superficiales (0-20 cm) de suelos agrícolas de la provincia de Buenos Aires provenientes de los partidos de Balcarce, Lobería y General Pringles, descriptos como pertenecientes a Argiudoles, Hapludoles y Paleudoles. Se realizaron dos extracciones por muestra y por método y dos lecturas de cada extracto. En los tres métodos se utilizaron las

muestras de suelo secas al aire y tamizadas por 2 mm. A fin de conocer la variabilidad de los métodos rápidos, se calcularon los desvíos estandar y coeficientes de variabilidad promedio de 15 muestras con contenidos de N-nitrato entre 3 y 90 mg kg⁻¹ que fueron analizadas por cuadruplicado.

La extracción en FDS se realiza con K₂SO₄ 0,1N en relación suelo:solución 1:2,5, 30 minutos de agitación mecánica a 170 rpm y se centrifuga la suspensión a 10000 rpm. Se llevan 2 ml del sobrenadante a sequedad, para luego agregar 1 ml de ácido fenoldisulfónico, 14 ml de agua destilada y 10 ml de NaOH (25%). Se lee la absorbancia a 420 nm.

En el caso de NCH, la extracción se realiza con KCl 0,04N en relación suelo:solución 1:1 y 2 minutos de agitación manual, al cabo de los cuales se efectúa una filtración en una bolsa *Ad hoc*. La cuantificación se realiza impregnando bandas reactivas en la solución de suelo y leyéndolas en el reflectómetro NCH, que expresa los resultados como mg NO₃ kg⁻¹ de suelo.

La extracción en AG se realiza con Al₂(SO₄)₃ 0,025M también en relación 1:1 y 2 minutos de agitación manual. Se coloca un papel de filtro dentro de la suspensión de suelo, de manera tal que la filtración tiene lugar desde afuera hacia adentro. Posteriormente se embeben bandas reactivas específicas y se procede a la lectura en el reflectómetro AG que expresa el resultado en mg NO₃ kg⁻¹ de suelo.

Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa SAS (SAS Institute Inc. 1985) a través de los coeficientes de correlación de Pearson y por análisis de regresión para poder conocer la ecuación que permita predecir N-NO₃ en función de las lecturas de los reflectómetros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las curvas de calibración de los tres métodos evaluados mostraron muy buenos ajustes, con coeficientes de regresión mayores a 0,99 (Tabla 1). Estos resultados confirman que cuando se emplean soluciones estandar, los métodos analizados son igualmente aptos para la cuantificación del contenido de nitratos.

FDS trabaja en un rango de hasta 14 mg L⁻¹ de N-NO₃ en la solución, lo que equivale a 35 mg N-NO₃ kg⁻¹ en el suelo (1:2,5 suelo:solución), y destaca la sensibilidad de este método. No obstante, cuando la muestra analizada tiene un contenido de nitrato mayor que este límite, es necesario diluir los extractos previo a la colorimetría, mientras que el rango de trabajo de NCH y AG es de 95

y 50 mg kg⁻¹ de N-NO₃, respectivamente. Si se considera la potencialidad de estos métodos para su uso fuera de laboratorios, el mayor rango de trabajo de los mismos es una ventaja desde el punto de vista práctico.

En la Tabla 2 se observa que no se encontraron diferencias significativas en el valor promedio estimado por AG y FDS, mientras que NCH produjo resultados significativamente inferiores a los otros dos métodos. Si bien los valores mínimos son muy similares entre los tres métodos, el máximo producido por NCH es sensiblemente menor. Los coeficientes de correlación calculados para FDS vs. AG (0,9699) y para FDS vs NCH (0,9842) son elevados y significativos (P<0,0001), lo cual demuestra la muy buena estimación efectuada por los dos métodos rápidos evaluados. El estudio de la variabilidad realizado sobre las 15 muestras repetidas por cuadruplicado arrojó valores medios de desvíos estándar de 0,893 y 0,611 para NCH y AG, respectivamente, y coeficientes de variabilidad de 4,08 y 6,79%, lo que indica que la repetitividad de los resultados obtenidos por los dos métodos es buena.

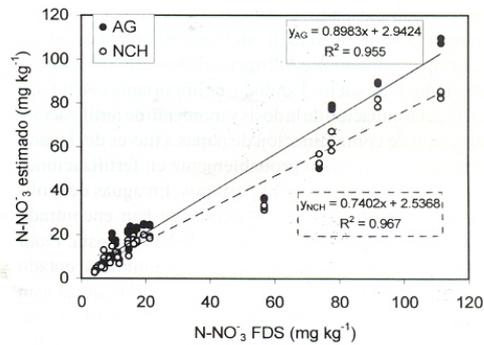


Figura 1. Ecuaciones de ajuste y coeficientes de regresión entre los métodos evaluados (FDS=fenoldisulfónico, AG=Agrilab y NCH=Nitrachek).

Tabla 2. Parámetros estadísticos de las muestras de suelo analizadas con los métodos evaluados (FDS= fenoldisulfónico, AG= Agrilab y NCH= Nitrachek) (n=25)

Método	Media	Mínimo	Máximo
		mg N-NO ₃ kg ⁻¹ suelo	
FDS	28,85 a	4,21	111,58
AG	28,38 a	3,11	109,7
NCH	23,89 b	3,64	85,59

Medias con distinta letra difieren significativamente (P<0,005)

Tabla 1. Parámetros de las ecuaciones de ajuste (mg l⁻¹ N-NO₃ patrón = a + b * lectura método) y coeficientes de regresión de las curvas de calibración de los métodos evaluados (FDS=fenoldisulfónico, NCH=Nitrachek y AG=Agrilab)

Método	Ordenada al origen a	Pendiente b	R ²
FDS	0,0004	0,0416	0,9998
NCH	-1,649	0,933	0,9914
AG	1,877	0,789	0,9903

Al calcular las ecuaciones de regresión entre los métodos rápidos vs. FDS se observan r^2 superiores a 0,95 (Figura 1). La pendiente de la ecuación de NCH (0,704) es menor que la de AG (0,898), lo que explicaría los menores valores promedio calculados. Las diferencias entre las pendientes no resultaron estadísticamente significativas cuando se las comparó con un test de paralelismo (Berenson *et al.* 1983); a pesar de ello, los menores valores promedio estimados por NCH conducirían a plantear la necesidad de corregir los resultados con la ecuación de ajuste. En un estudio del contenido de nitratos en aguas de pozo, empleando un método igual a AG (Merckoquant), FDS, cromatografía de iones y reducción de cadmio automatizada, se determinaron coeficientes de correlación mayores a 0,91 (Phillips *et al.* 1995). Estos autores determinaron iguales pendientes cuando comparan AG vs. los otros tres métodos de laboratorio.

En experiencias realizadas en nuestro país no se logró una predicción satisfactoria por parte de NCH al trabajar con muestras de suelo húmedas, lo que fue adjudicado al escaso tiempo de extracción (Di Nápoli, González Montaner, 1995). En el presente trabajo, realizado con muestras secas al aire, se encuentra una buena predicción con este método, a pesar de que el tiempo de extracción fue de 2 minutos, por lo que se podría suponer que la variabilidad introducida por trabajar con muestra fresca es mucho mayor que la debida al tiempo de extracción. El secado de las muestras al aire no presenta una gran complejidad y puede ser realizado fácilmente extendiendo una fina capa de la muestra, previamente desmenuzada, sobre un papel limpio en un lugar sombreado y con circulación de aire, de modo que el secado ocurra rápidamente. Si bien es cierto que durante el proceso de secado la mineralización no se detiene, su velocidad disminuye marcadamente con la pérdida de humedad (Navarro *et al.* 1991), por lo que los resultados obtenidos usando muestra seca serían buenos estimadores del contenido de nitratos. En condiciones normales, el secado de las muestras no insumiría más de 24 ó 48 horas y éste sería el plazo máximo para la obtención de los resultados, utilizando un método rápido, ya que el análisis en sí lleva sólo unos minutos.

Además de la rapidez y precisión en la obtención de los resultados, otros aspectos importantes a tener en

cuenta respecto a estos métodos rápidos son la sencillez de su utilización, que comparativamente emplean cantidades ínfimas de reactivos tóxicos o perjudiciales para el hombre y, que su costo es accesible para asesores o productores.

Los resultados del presente trabajo permiten concluir que los dos métodos rápidos evaluados pueden utilizarse para cuantificar el contenido de nitratos en muestras de suelo secas al aire.

REFERENCIAS

- Berenson ML, Levine DM, Golztein M. 1983. Intermediate statistical methods and applications. Prentice Hall. Inc. Pag. 329-331.
- Costa JL, Vidal C. Transporte de nitrato en la zona no saturada bajo diversos usos del suelo. 1998. Actas XVI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Pag. 349.
- Di Nápoli MR, González Montaner JH. 1995. Evaluación de un método de campo para la determinación del contenido de nitratos en suelos. En: SAMLA, Determinaciones de formas inorgánicas de nitrógeno. SAGyP: 9-14.
- Hartz TK. 1994. A quick test procedure for soil nitrate-nitrogen. Commun. in Soil Sci. And Pl. Anal. 25: 511-515.
- Navarro C, Echeverría H, Fonalleras M, Manavella F. 1991. Efecto del contenido de humedad sobre la mineralización del nitrógeno en suelos del Sudeste bonaerense. Ciencia del Suelo 9: 13-19.
- Nitsh A, Varis E. 1991. Nitrate estimates using the Nitratechek test for precise N-fertilization during plant growth and, after harvest, for quality testing potato tubers. Potato research 34 : 95-105.
- Phillips SB, Raun WP, Basta NT. 1995. Use of reflectometry for determination of nitrate-nitrogen in well water. J. Pl. Nutr. 18: 2569-2578.
- SAG y P. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. 1995. Boletín de insumos agrícolas. Fertilizantes. Campaña 1995-6. 4p.
- SAS Institute 1985. SAS user's guide : Statistic. Version 5.18 Ed. SAS Inst., Cary, NC.
- Sbaraglia M, Galetto ML, De Lisi JC. 1988. Métodos de análisis de suelos. Desarrollo de la fertilización en Argentina. SAG y P- Enichem Agricultura. Milán. 33 p.
- Titchen NM, Scholefields D. 1992. The potential of a rapid test for soil mineral nitrogen to determine tactical applications of fertilizer nitrogen to grassland. Aspects of Applied Biol. 30: 223-229.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1984. National statistical Assessment of rural water conditions. Office of drinking water. Washington, DC.