

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES

PROYECTO DE GRADUACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

“MAGISTER EN MANEJO INTEGRAL DE LABORATORIOS DE  
DESARROLLO”

“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN MATERIAL DE  
REFERENCIA INTERNO DE SUELOS PARA LOS MACRO  
ELEMENTOS P, K, Ca y Mg EXTRAÍDOS CON OLSEN  
MODIFICADO PARA ANÁLISIS EN SUELOS CAÑEROS DEL  
ORDEN INCEPTISOL, ENTISOL Y VERTISOL DE LA CUENCA  
BAJA DEL RÍO GUAYAS”

AUTOR:

Dr. BOLÍVAR ISMAEL AUCATOMA GUERRERO

Guayaquil – Ecuador

2017

## **DEDICATORIA**

A mi familia: Mis padres Luis Aníbal y María Ofelia, a mis hermanos Luis, Diego, Belén y Camila, a mis hijos Andrés David, Valeria, Paulette y Sebastián y mi esposa María Mercedes.

## **AGRADECIMIENTO**

A todas las personas que contribuyeron al feliz término de este trabajo y de forma particular a:

A la ESPOL y en su representación a la Dra. Olga Gonzales mi directora de proyecto que con sus conocimientos, paciencia y estímulo ha hecho posible podamos terminar esta investigación y al Magister Michael Rendón que a aportado con importantes sugerencias en el desarrollo de este trabajo.

Al Centro de Investigación de la Caña de Azúcar (CINCAE) en su representación al Dr. Raúl Castillo, Director General, quien siendo partícipe de la importancia de la investigación ha apoyado para el feliz término de este trabajo. Al Ing. Miguel Suarez por su colaboración en la toma de las muestras. A todo el personal del Laboratorio Químico, Tanya Guillén, Gladys Solís, Isaac Rojas, Luis Guevara, Michelle Contreras y especialmente a Karina Fajardo y Wilson Solano responsables de la preparación y análisis de suelos.

Al Ing Jorge Mendoza, Dr. Fernando Gualpa y Dr. Luis Ramos, quienes realizaron importantes recomendaciones a este trabajo.


## DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma, corresponde exclusivamente a la **Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales** de la Escuela Superior Politécnica del Litoral”



*Bolívar Ismael Aucatoma Guerrero*

# TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



---

**Luis Domínguez Granda, Ph.D.**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



---

**Olga González Sánchez, Ph.D.**  
**DIRECTORA DE PROYECTO**



---

**M.Sc. Michael Rendón Morán**  
**VOCAL DEL TRIBUNAL**

## **AUTOR DEL PROYECTO**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Bolívar Aucatoma". The signature is stylized with several overlapping horizontal strokes.

*Bolívar Ismael Aucatoma Guerrero*

# ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Declaración Expresa	iii
Tribunal de Graduación	iv
Autor del Proyecto	v
Índice General	vi
Índice de Ilustraciones	ix
Índice de Figuras	xii
Introducción	xiv
RESUMEN	xvi
SUMMARY	xviii
CAPÍTULO I	1
1. Información General	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Planteamiento del Problema	2
1.3. Justificación	3
1.4. Alcance	4
1.5. Datos Socio Económicos	4
1.6. Hipótesis	4
1.7. Objetivos	5
1.7.1. Objetivo General.	5
1.7.2. Objetivos Específicos.	5
CAPÍTULO II	6
2. Marco Teórico	6
2.1. Materiales de Referencia Certificados	7
2.2. Preparación de un material de referencia	8
2.3. Comparación Interlaboratorios	9
2.4. Materiales de Referencia Internos	10

2.5. Extractantes para suelos con fines de fertilización	11
2.6. Extractante Olsen Modificado	11
2.7. Los Macro nutrientes fósforo, potasio, calcio y magnesio en suelos agrícolas	12
2.7.1. Fósforo	12
2.7.2. Potasio	12
2.7.3. Calcio	13
2.7.4. Magnesio	13
2.8. Suelos del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol en la Cuenca Baja del Río Guayas	14
2.9 ESTADÍSTICOS	15
CAPÍTULO III	19
3. Materiales y métodos	19
3.1. Materiales	19
3.1.1. Muestreo, secado y molido	19
3.1.2. Mezclado y almacenado	19
3.1.3. Preparación y lectura	19
3.2. Reactivos	20
3.3. Metodología	21
3.3.1. Muestreo, preparación y codificación de los suelos	21
3.3.2. Extracción de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio con solución de olsen modificado	24
3.3.3. Preparación de soluciones estándar de fósforo, potasio, calcio y magnesio	25
3.4. Espectrofotometría de absorción atómica y ultravioleta visible	26
3.5. Cuantificación de Fósforo por espectrofotometría ultravioleta visible	27
3.6. Cuantificación de Potasio, Calcio y Magnesio por absorción atómica	27
CAPÍTULO IV	29
4. Diseño Experimental	29
4.1. Tiempo de mezclado del MRI	29
4.2. Homogeneidad del MRI	30
4.3. Estabilidad del MRI	30



4.4. Determinación de los valores asignados para los MRI con intercomparación de la RELASE	31
4.5. Estimación de la precisión, exactitud y recuperación de los métodos de análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio en suelos con el extractante Olsen Modificado	31
4.6. Estimación de la incertidumbre y límites de confianza para las determinaciones fósforo, potasio, calcio y magnesio en los tres MRI	32
CAPÍTULO V	34
5. Resultados y discusión	34
5.1. Tiempo de mezclado DEL MRI	34
5.2. Homogeneidad del MRI	37
5.3. Estabilidad del MRI	40
5.4. Determinación de los valores asignados para los MRI con intercomparación de la RELASE	42
5.5. Cálculo de la precisión, exactitud y recuperación de los métodos de análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio en suelos con el extractante Olsen Modificado	43
5.6. Cálculo de las incertidumbres y límites de confianza para las determinaciones de fósforo, potasio, calcio y magnesio con el extractante Olsen Modificado en los MRI 1, MRI 2 y MRI 3	44
CAPÍTULO VI	46
6. Conclusiones y Recomendaciones	46
BIBLIOGRAFÍA:	49
ANEXOS:	52
APÉNDICES	55
<i>APÉNDICE A: Tiempo de Mezclado del mri</i>	56
<i>APÉNDICE B: Homogeneidad del MRI</i>	59
<i>APÉNDICE C: Estabilidad del MRI</i>	71

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

TABLA 1. Volúmenes de la solución madre usados para preparación de los estándares, concentraciones en las soluciones estándar y en el suelo para fósforo. ....	25
TABLA 2. Volúmenes de la solución madre usados para preparación de los estándares, concentraciones en las soluciones estándar y en el suelo para potasio, calcio y magnesio. ....	25
TABLA 3. Parámetros de operación del espectrofotómetro de absorción atómica y ultravioleta visible.....	28
TABLA 4. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 10 datos ( $G_{crit}$ : 2.29) en muestras del MRI 1 tomadas sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado.....	34
TABLA 5. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 10 datos ( $G_{crit}$ : 2.29) en muestras del MRI 2 tomadas sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado.....	35
TABLA 6. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 10 datos ( $G_{crit}$ : 2.29) en muestras del MRI 3 tomadas sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado.....	35
TABLA 7. Determinación de los estadísticos media, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV), a las cero, dos, cuatro y seis horas de mezclado de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3 .....	36
TABLA 8. Promedios, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) del análisis de P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras tomadas para homogeneidad de los materiales MRI 1, MRI 2 y MRI 3.....	37
TABLA 9. Resultados de test C Cochran (95 % probabilidad) en la determinación de homogeneidad de tres materiales de referencia internos en los parámetros P, K, Ca y Mg. ....	38
TABLA 10. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 14 datos ( $G_{crit}$ 2.37) en el análisis de P, K, Ca y Mg en muestras del MRI 1, MRI 2 y MRI 3 analizadas para estabilidad a los seis meses. ....	41

TABLA 11. Determinación de los estadísticos media, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) en la estabilidad a los seis meses de los tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3.....	41
TABLA 12. Aplicación del estadístico t ( $t_{\text{tab}}$ 2.18) en la comparación de la media de 14 datos y el valor asignado como verdadero en la determinación de estabilidad de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3. ....	42
TABLA 13. Promedios, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) de los análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado de los tres MRI realizados en un ensayo interlaboratorios de la RELASE .....	42
TABLA 14. Porcentajes de recuperación (Rec.) y error de los resultados de fósforo, potasio, calcio y magnesio del laboratorio Químico con relación a los resultados de un interlaboratorios de la RELASE .....	44
TABLA 15. Promedio, incertidumbre expandida, desviación estándar (DS), coeficiente de variación (CV) y límite de confianza de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3 en la cuantificación con Olsen Modificado de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio.....	45
CUADRO 16. Cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg de la muestra de suelos del orden Inceptisol (MRI 1) sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de <i>mezclado</i> .....	56
TABLA 17. Cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg de la muestra de suelos del orden Entisol (MRI 2) sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de <i>mezclado</i> .....	57
TABLA 18. Cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg de la muestra de suelos del orden Vertisol (MRI 3) sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de <i>mezclado</i> .....	58
TABLA 19. Análisis de fósforo de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1 .....	59
TABLA 20. Análisis de fósforo de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2 .....	59
TABLA 21. Análisis de fósforo de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3 .....	60
TABLA 22. Análisis de potasio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1 .....	60

TABLA 23. Análisis de potasio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2 .....	61
TABLA 24. Análisis de potasio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3 .....	61
TABLA 25. Análisis de calcio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1.....	62
TABLA 26. Análisis de calcio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2 .....	62
TABLA 27. Análisis de calcio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3 .....	63
TABLA 28. Análisis de magnesio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1 .....	63
TABLA 29. Análisis de magnesio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2. ....	64
TABLA 30. Análisis de magnesio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3. ....	64
TABLA 31. Prueba C de Cochran en la determinación de fósforo para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1) .....	65
TABLA 32. Prueba C de Cochran en la determinación de fósforo para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2).....	65
TABLA 33. Prueba C de Cochran en la determinación de fósforo para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3).....	66
TABLA 34. Prueba C de Cochran en la determinación de potasio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1) .....	66
TABLA 35. Prueba C de Cochran en la determinación de potasio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2).....	67
TABLA 36. Prueba C de Cochran en la determinación de potasio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3).....	67
TABLA 37. Prueba C de Cochran en la determinación de calcio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1) .....	68
TABLA 38. Prueba C de Cochran en la determinación de calcio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2).....	68
TABLA 39. Prueba C de Cochran en la determinación de calcio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3).....	69

TABLA 40. Prueba C de Cochran en la determinación de magnesio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1) .....	69
TABLA 41. Prueba C de Cochran en la determinación de magnesio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2).....	70
TABLA 42. Prueba C de Cochran en la determinación de magnesio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3).....	70
TABLA 43. Resultados de la determinación de estabilidad del MRI 1 a los seis meses en la determinación de los elementos P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras .....	71
TABLA 44. Resultados de la determinación de estabilidad del MRI 2 a los seis meses en la determinación de los elementos P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras .....	72
TABLA 45. Resultados de la determinación de estabilidad del MRI 3 a los seis meses en la determinación de los elementos P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras .....	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Diagrama de Ishikawa para la obtención de un MRC.....	8
FIGURA 2. Proceso de toma de muestra en suelos. ....	21
FIGURA 3. Sitios de toma de muestras de suelos: 1) Ingenio Valdez lote: 001-024 del orden Inceptisol, 2) Ingenio San Carlos lote: 023210 e Ingenio del orden Entisol y 3) Ingenio Coazucar sector, Agriflorsa A017-210 del orden Vertisol. ....	22
FIGURA 5. Proceso de secado de muestras de suelos en la estufa de circulación de aire forzado. ....	23
FIGURA 4. Lotes muestreados de los ingenios: 1) Valdez lote: 001-024, 2) San Carlos lote: 023210, 3) Coazucar sector Agriflorsa A017-210 .....	22
FIGURA 6. Proceso de mezclado de las muestras de suelos MRI 1, MRI 2 y MRI 3. ....	24

FIGURA 7. Gráfico de cajas (Box Plot) del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 1.....	38
FIGURA 8. Gráfico de cajas (Box Plot) del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 2.....	39
FIGURA 9. Gráfico de cajas (Box Plot) del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 3.....	40

## INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación trata sobre la elaboración de un material de referencia interno (MRI) en matrices de suelos para las cuales no se encuentran materiales de referencia certificados (MRCs), en los parámetros y con los extractantes utilizados en el Ecuador, que es el caso de la determinación del contenido disponible de los macro nutrientes P, K, Ca y Mg extraídos con Olsen Modificado que no existe en el mercado. Sin embargo, en la mayoría de laboratorios de análisis de suelos del país se realizan análisis en estos elementos y con este extractante, para la evaluación de los laboratorios se ha creado una Red de Laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador (RELASE) que ha permitido estandarizar métodos de ensayo y mejorar en la precisión y exactitud; sin embargo, en todas las rondas interlaboratorios existen parámetros que al realizar un análisis de normalidad de datos no cumplen, lo que no permite evaluar en todos los parámetros deseados el desempeño de cada laboratorio.

Por este motivo el Laboratorio Químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) se propone elaborar un MRI que permita evaluar el desempeño periódicamente, para lo cual se debe tomar en cuenta que un material de referencia debe contar con ciertas propiedades como ser homogéneo y estable con respecto a propiedades específicas (BIPM/IEC/IFF/ILAC/ISO/IUPAP/OIML, 2009); además, debe ser en una matriz semejante a las muestras que se analizarán rutinariamente.

Para realizar este estudio primero se evaluaron los mapas de suelos de los ingenios San Carlos, Valdez y La Troncal (Coazucar) para determinar cuáles son los órdenes de suelos más representativos, se escogieron tres de los órdenes Inceptisol (MRI 1), Entisol (MRI 2) y Vertisol (MRI 3), se tomó una muestra de 0–30 cm de profundidad en cada ingenio.

La preparación de la muestra se realiza de acuerdo al método del laboratorio, por el tamaño de la muestra se realiza una mezcla adicional para asegurar su homogeneidad, mezclando primero con una pala y luego colocar la muestra en un recipiente plástico de 110 litros hasta la mitad y agitar por seis horas, tomando muestras para análisis con intervalos de dos horas. Los análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio se realizan de acuerdo a la metodología de RELASE con extractante Olsen Modificado implementada en el Laboratorio Químico desde el año 2002, utilizando equipos calibrados, reactivos grado analítico y materiales de referencia certificados, el análisis de fósforo se realiza por un método espectrofotométrico UV/VIS y el potasio, calcio y magnesio por espectroscopía de absorción atómica.

Cada una de las muestras de suelos se divide en 100 sub muestras, para análisis de homogeneidad se determina que deben tomarse 14 sub muestras, sobre las que se realizan análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio con seis repeticiones en días diferentes. De las mismas muestras se envían a la coordinación de la RELASE y con los resultados del informe se estima la exactitud del laboratorio; así como, la incertidumbre y límite de confianza para cada uno de los parámetros en los tres MRI. Además, a los seis meses se evalúa la estabilidad del material realizando el análisis de las mismas sub muestras tomadas para homogeneidad.

Concluidas las pruebas para la elaboración el Laboratorio Químico de CINCAE cuenta con tres MRI de suelos de los órdenes Inceptisol, Entisol y Vertisol para el control de calidad en las determinaciones de fósforo, potasio, calcio y magnesio. También estos materiales pueden servir para laboratorios miembros de la RELASE que tengan problemas de control de calidad en éstos parámetros. Este trabajo puede servir como punto de partida para realizar otros materiales de referencia en suelos para otros parámetros, ya que en el país no existe un laboratorio u organismo que lo preparen.



## RESUMEN

El uso de materiales de referencia certificados (MRCs) en los laboratorios de análisis es una práctica necesaria; sin embargo, éstos suelen ser costosos o no hay en el mercado por la gran cantidad de matrices o por no ser de uso generalizado. Esta dificultad ha llevado a que los laboratorios elaboren sus materiales de referencia internos (MRI). Este es el caso de los materiales de referencia para matrices de suelos, debido a que su composición química depende del sitio de donde provengan las muestras. Además, la caracterización del contenido de elementos químicos del suelo disponibles para las plantas se realiza con diferentes tipos de extractantes basados en el país o región.

El presente trabajo tiene como objetivo elaborar tres materiales de referencia internos (MRI 1, MRI 2 y MRI 3) en los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado en los suelos de los órdenes Inceptisol, Entisol y Vertisol, respectivamente. Estos órdenes son los más representativos de las áreas de cultivo de caña de azúcar de la cuenca baja del río Guayas en los ingenios Valdez, San Carlos y Coazucar. Las muestras se secaron a 60°C, se molieron y tamizaron (500  $\mu\text{m}$ ), para luego mezclarlas por seis horas. Para las pruebas de homogeneidad, cada MRI fue dividido en 100 sub muestras, se tomaron 14 al azar y realizaron los análisis de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio en seis días diferentes, los resultados se evaluaron con el test de la C de Cochran al 95% de probabilidad. Los resultados mostraron que MRI 1 y MRI 3 no muestran diferencias en los cuatro elementos, mientras que en MRI 2, únicamente en magnesio existen diferencias significativas.

Las 14 sub muestras se mezclaron y se enviaron a la coordinación de la Red de Laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador RELASE para el análisis de los cuatro elementos en los laboratorios miembros. De los resultados obtenidos en la prueba interlaboratorios se obtuvieron los valores asignados para cada elemento, con los cuales se estimaron las recuperaciones y exactitudes de los métodos.

A los seis meses a las 14 sub muestras utilizadas en el análisis de homogeneidad de los tres materiales de referencia interno se analizaron los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio, al realizar el análisis estadístico de la t y comparar una media con un valor tomado como conocido (pruebas de homogeneidad) no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los elementos en los tres materiales.

Los resultados de las mediciones de las curvas de calibración, las incertidumbres de los estándares y de las calibraciones de materiales y equipos permitieron determinar las incertidumbres de cada MRI, que unidos a los resultados de las 84 repeticiones realizadas en la determinación de homogeneidad se obtuvo el valor de referencia para cada parámetro con su incertidumbre asociada. Así, para **MRI 1**: fósforo  $12.07 \pm 1.00$  ppm, potasio  $0.38 \pm 0.01$  meq.100g<sup>-1</sup>, calcio  $17.89 \pm 0.98$  meq.100g<sup>-1</sup> y magnesio  $6.26 \pm 0.01$  meq.100g<sup>-1</sup>; para **MRI 2**: el fósforo  $30.98 \pm 2.40$  ppm, potasio  $0.18 \pm 0.02$  meq.100g<sup>-1</sup>, calcio  $15.18 \pm 0.87$  meq.100g<sup>-1</sup> y magnesio  $4.25 \pm 0.27$  meq.100g<sup>-1</sup>; y, para **MRI 3**: el fósforo  $5.59 \pm 0.58$  ppm, potasio  $0.28 \pm 0.03$  meq.100g<sup>-1</sup>, calcio  $10.58 \pm 0.87$  meq.100g<sup>-1</sup> y magnesio  $3.58 \pm 0.27$  meq.100g<sup>-1</sup>.

Se concluye que se obtuvieron tres MRIs (MRI 1, MRI 2 y MRI 3) que se muestran estables por más de un año, los tres mostraron precisiones y exactitudes adecuadas en los cuatro parámetros evaluados. Mostrando coeficientes de variación alrededor del 5% y porcentaje de recuperación entre el 90 a 110% en 10 de los 12 casos, considerado adecuado para este tipo de matriz y las concentraciones estimadas. Estos resultados permitieron al Laboratorio Químico de CINCAE tener a disposición materiales de referencia de suelos con valores asignados en los analitos fósforo, potasio, calcio y magnesio (Olsen Modificado) con una incertidumbre asociada, que permitirán llevar un mejor control de calidad de sus resultados analíticos.

## **SUMMARY**

The use of certified reference materials (MRCs) in analytical laboratories is a necessary practice; however, these are often expensive or there are no market, due to a large number of matrices and also not widely used. This difficulty has led to develop their internal reference materials (MRI) in many laboratories. This is the case of reference materials for soil matrices, because their chemical composition depends on the site from which the samples come from.. In addition, characterization of the available soil chemical element content for plants is performed with different types of extractants based on the country or region.

The present work aims to develop three internal reference materials (MRI 1, MRI 2 and MRI 3) in phosphorus, potassium, calcium and magnesium elements with Olsen Modified extractant in the soil orders Inceptisol, Entisol and Vertisol respectively. These orders are the most representative of the sugar cane crop growing areas of the lower basin of the Guayas River at Valdez, San Carlos and Coazucar sugar mills. Samples were dried at 60 °C, grinded and sieved (500 µm), then mixed for six hours. These samples were kept during one year in a capped plastic container, after this period of time three samples were taken and analyzed for the elements phosphorus, potassium, calcium and magnesium. Samples were considered stable after a Cochran's C test 95% probability statistical test was performed.

For the homogeneity tests, each MRI was divided into 100 sub-samples, from them 14 samples were randomized and analyzed for phosphorus, potassium, calcium and magnesium in six different days. Data was evaluated with the Cochran's C test 95% probability. Results showed that MRI 1 and MRI 3 did not

show differences in all four elements, whereas in MRI 2 only magnesium was significant different.

The same 14 subsamples were mixed and sent to the coordination of the Ecuadorian Network of Soil Laboratories (RELASE) for the analysis of the four elements in all member laboratories. The results obtained from the inter-laboratory test in the network were used to assign values for each element, which allowed to estimate the recovery and accuracy of the methods.

The results of calibration curves measurements, the uncertainties certificates of standards and the calibrations of materials and equipment, allowed to determine the uncertainties for each MRI, which together with the results of the 84 performed replicates in the determination of homogeneity, the reference value was obtained for each parameter with its associated uncertainty. Thus, for MRI 1: phosphorus  $12.07 \pm 1.00$  ppm, potassium  $0.38 \pm 0.01$  meq.100g<sup>-1</sup>, calcium  $17.89 \pm 0.98$  meq.100g<sup>-1</sup> and magnesium  $6.26 \pm 0.01$  meq.100g<sup>-1</sup>; MRI 2: phosphorus  $30.98 \pm 2.40$  ppm, potassium  $0.18 \pm 0.02$  meq.100g<sup>-1</sup>, calcium  $15.18 \pm 0.87$  meq.100g<sup>-1</sup> and magnesium  $4.25 \pm 0.27$  meq.100g<sup>-1</sup>; and MRI 3: phosphorus  $5.59 \pm 0.58$  ppm, potassium  $0.28 \pm 0.03$  meq.100g<sup>-1</sup>, calcium  $10.58 \pm 0.87$  meq.100g<sup>-1</sup> and magnesium  $3.58 \pm 0.27$  meq.100g<sup>-1</sup>.

In conclusion, three MRIs (MRI 1, MRI 2 and MRI 3) were stable for more than one year, all three showed accuracy and precision for the four parameters evaluated. They showed coefficients of variation of 5% and recovery rate between 90 and 110% in 10 of the 12 cases, which are considered adequate for this type of matrix and the estimated concentrations. These results allowed to the CINCAE Chemical Laboratory make available reference materials of soils with assigned values in the analytes phosphorus, potassium, calcium and magnesium (Olsen Modificado) with associated uncertainty allowing better quality control of their analytical results.

## **CAPÍTULO I**

### **1. INFORMACIÓN GENERAL**

Los laboratorios de análisis están sujetos a controles estrictos de calidad de sus clientes sean éstos internos o externos, por lo que los resultados de análisis físicos, químicos, físico-químicos, microbiológicos, etc., deben ser precisos y exactos en cualquier tipo de matriz. La norma (ISO/IEC17025:2005, 2005), sugiere que en cada laboratorio hasta donde sea posible se utilice materiales de referencia certificados (MRC) o pruebas interlaboratorios para ajustar sus métodos de análisis, respecto a un valor de referencia; sin embargo, éstos MRC no siempre se pueden conseguir en el mercado. Esto por la gran cantidad de parámetros que actualmente se analizan o debido a que son determinaciones más bien específicas y que no son de interés generalizado. De la misma forma, las pruebas interlaboratorios no siempre son factibles de realizar o los parámetros analizados no consiguen una normalidad de los resultados dentro del grupo de laboratorios participantes.

#### **1.1. ANTECEDENTES**

Los laboratorios de análisis de suelos utilizan soluciones de compuestos químicos conocidos como extractantes que tratan de emular la cantidad que la planta extrae del suelo de los elementos disponibles. La diversidad de tipos de suelos y por lo tanto sus diferentes características físicas y químicas ha hecho que se desarrollen diferentes soluciones extractantes, que por lo general se encuentran constituidas por diferentes compuestos químicos en los que se incluyen: sales, ácidos, bases, compuestos acomplejantes, etc., que por lo general se regulan a un pH específico.

Con cada extractante, y utilizando diferentes tipos de suelos, se preparan MRCs, con lo cual los laboratorios que realizan análisis de suelos pueden escoger el suelo que más se asemeja a los que regularmente analiza y luego haciendo uso de los valores de referencia para cada parámetro, estimar la exactitud del método que se utiliza. Así mismo, existen organismos que se dedican a la preparación de éstos MRCs, tales como: el National Institute of Standards and Technology (NIST) de los Estados Unidos, y The Wageningen Evaluating programs for Analytical Laboratories (WEPAL) de Holanda, el ISE Sample 938 para un suelo Andisol proveniente de Nicaragua.

El extractante para suelos de uso más generalizado en la Costa y Sierra ecuatoriana es Olsen Modificado con el que se extrae previo a su cuantificación el contenido disponible de los macro elementos P, K, Ca y Mg y de los micro elementos Zn, Cu, Fe y Mn, no obstante Olsen Modificado no es de uso generalizado en el Mundo, a parte de Ecuador se usan solo en determinadas regiones de países como Costa Rica y Argentina, lo cual ha dado como resultado que no sea atractivo comercialmente preparar MRCs; Además, que no se tendría un volumen importante de laboratorios participantes por el mismo motivo y así no se podría obtener valores asignados para cada parámetro, lo cual es el propósito de los Materiales de Referencia Certificados (MRCs).

## **1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El Laboratorio Químico de CINCAE utiliza el extractante Olsen Modificado para la extracción en suelos de los macroelementos P, K, Ca y Mg en muestras de suelos desde su creación en el año 2001. Durante éste tiempo se han estandarizado los métodos de análisis para cada elemento; el fósforo se cuantifica por espectroscopía UV/VIS y los elementos potasio, calcio y magnesio por espectrofotometría de absorción atómica.

Los análisis de los elementos disponibles en suelos se realizan con dos fines: 1) para las investigaciones en nutrición de la caña de azúcar, cuyos resultados sirven directamente en la generación de nuevas tecnologías de fertilización, que serán aplicadas en los cultivos comerciales; y, 2) con fines de fertilización

en lotes o canteros de los Ingenios Coazucar y Valdez; así como de cañicultores. A partir de estos resultados se determina la disponibilidad de los elementos para la aplicación de fertilizantes. De aquí la importancia de contar con métodos de análisis precisos y exactos, ya que de no ser así, se obtendrían tecnologías de recomendaciones de fertilización poco confiables; y, en el segundo caso se producirán pérdidas económicas, sea por la aplicación innecesaria de fertilizantes o por no aplicar la dosis suficiente, lo que incide en la disminución de la producción y/o productividad en el cultivo.

La falta de MRC para la matriz suelos con el extractante Olsen Modificado y la alta variabilidad de los resultados entre los laboratorios del país, hace que se cree en octubre del 2001 la Red de Laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador (RELASE), la cual plantea estandarizar los métodos de análisis para el extractante antes mencionado, se inscriben 11 laboratorios, siendo uno de ellos el Laboratorio Químico de CINCAE. En el 2017 esta Red está integrada por 15 laboratorios. En el 2010 los resultados de la RELASE muestran que el 70% de laboratorios reportan resultados satisfactorios en los elementos fósforo, potasio, calcio, magnesio, zinc, cobre, hierro y manganeso (Carrera & Aucatoma, 2010); sin embargo, cada laboratorio tiene diferencias de infraestructura, equipos, materiales, reactivos, personal calificado, etc. lo que hace que en cada ronda de intercomparación no todos los parámetros se encuentren normalizados. Dadas estas circunstancias, el Laboratorio Químico de CINCAE preparará sus propias muestras y comparará con los laboratorios que presentan menor dispersión en las intercomparaciones de RELASE, respecto al promedio general.

### **1.3. JUSTIFICACIÓN**

Una medida de control de la exactitud en el análisis de suelos que utiliza el Laboratorio Químico de CINCAE es la comparación de sus resultados con los promedios de las intercomparaciones realizadas por la RELASE. Esta medida permite ver el desempeño del laboratorio al compararlo con toda la RED, pruebas interlaboratorios (ISO/IEC17025:2005, 2005); Sin embargo, es necesario mantener controles rutinarios por lo que, el presente trabajo plantea obtener un Material de Referencia Interno (MRI) que permita realizar un control

continuo de la exactitud de sus resultados, para lo cual se tomaron tres muestras de suelos de los más representativos de los Ingenios San Carlos, Valdez y Coazucar; y, como los valores reales o asignados se tomarán los resultados obtenidos por ocho laboratorios miembros de RELASE, incluido el de CINCAE en una ronda de intercomparación con las muestras que se usarán como MRI (Jaramillo, 2017).

#### **1.4. ALCANCE**

Las muestras de suelo se tomarán en lotes pertenecientes a los ingenios San Carlos, Valdez y Coazucar que se encuentran ubicados en la cuenca baja del río Guayas. Los ensayos de laboratorio se realizarán en el Laboratorio Químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador, ubicado en el Km 49.6 de la Vía Durán – El Triunfo. Se obtendrán tres lotes de materiales de referencia interno (MRI), de 100 muestras cada uno, con valores asignados de promedios e incertidumbre.

#### **1.5. DATOS SOCIO ECONÓMICOS**

En el 2014 se cosecharon 65005 ha de caña de azúcar de las cuales 34891 ha corresponde a los ingenios San Carlos, Valdez y Coazucar y 30114 ha pertenecen a cañicultores, obteniéndose una producción de 10´294,564 sacos de azúcar de 50 kg (Castillo, Informe Anual CINCAE 2014, 2014). Uno de los costos más relevantes en la producción de caña son los fertilizantes, lo cual representa alrededor de 10´000000 millones de dólares anuales en la compra de fertilizantes nitrogenados, fosforados y potásicos principalmente, ya que no se aplican micro elementos (Castillo, Informe Anual CINCAE 2010, 2010). Por lo general, los ingenios y cañicultores por décadas han colocado dosis de fertilización únicas, sin realizar análisis de suelos o aún contando con este resultado. Esto se debe principalmente a la falta de cultura del uso de esta herramienta y a la falta de confiabilidad de los resultados por parte de los laboratorios de análisis.

#### **1.6. HIPÓTESIS**

H0: Puede elaborarse Materiales de Referencia Interno confiables en matrices



de suelos para los elementos P, K, Ca y Mg con el extractante Olsen Modificado.

H1: No puede elaborarse Materiales de Referencia Interno confiables en matrices de suelos para los elementos P, K, Ca y Mg con el extractante Olsen Modificado.

## **1.7. OBJETIVOS**

### **1.7.1. Objetivo General.**

Elaborar tres Materiales de Referencia Interno en matrices de suelos del Orden Inceptisol, Entisol y Vertisol, para la comparación de los datos obtenidos en el trabajo rutinario y el control de calidad de los resultados del Laboratorio Químico del CINCAE.

### **1.7.2. Objetivos Específicos.**

- Obtener tres muestras homogéneas de suelos del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol de los ingenios San Carlos, Valdez y Coazucar que serán utilizadas como material de referencia interno.
- Evaluar la estabilidad de los suelos del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol en la cuantificación del contenido disponible de los elementos P, K, Ca y Mg, extraídos con solución de Olsen Modificado.
- Determinar la precisión y exactitud de los resultados del Laboratorio Químico del CINCAE en la cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg en tres muestras de suelos con extractante Olsen Modificado utilizando como valor de referencia los promedios de una intercomparación de RELASE en los tres órdenes de suelos en estudio.
- Determinar el promedio, el intervalo de confianza y la incertidumbre asociada a los materiales de referencia internos en la cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg utilizando el extractante Olsen Modificado.

## **CAPÍTULO II**

### **2. MARCO TEÓRICO**

En la agroindustria una de las principales herramientas para mejorar la producción y productividad de los cultivos es la fertilización, la misma que debe estar sustentada en los análisis del suelo, que permiten efectuar pronósticos sobre la disponibilidad de los nutrientes para las plantas. Los análisis físicos y químicos vienen siendo utilizados desde finales del siglo XIX como el principal criterio para determinar parámetros como: acidez del suelo, disponibilidad de macronutrientes tales como: P, K, Ca y Mg, así como los micronutrientes Zn, Cu, Fe y Mn, entre otros (Abreu, Abreu Ferreira, Andrade, & van Raij, 1996) (Navarro Blaya, Bautista Parejo, & Navarro García, 2000). Un análisis de suelo con fines de fertilización es algo particular ya que no busca cuantificar el contenido total del elemento a analizar, sino determinar el contenido disponible para la planta; Además al existir una gran variedad de tipos de suelos con características físicas y químicas diferentes la planta absorbe de forma y en cantidades diferentes, por lo que para cuantificar el contenido disponible no se puede utilizar una misma solución extractante para los diferentes tipos de suelos. Por tanto, una adecuada fertilización depende básicamente en determinar el extractante adecuado para el tipo de suelo y cultivo, así como la calidad y fiabilidad del laboratorio en el que se realicen los análisis. La solución extractante busca extraer los elementos disponibles en el suelo y que la planta pueda asimilarlos, el ensayo en el laboratorio consiste por lo general en realizar una solución acuosa con uno o varios compuestos químicos que puedan emular lo que la planta extraería, como ejemplo podemos citar a los extractantes Mehlich I, II y III, Bray I y II. Olsen, Olsen Modificado, etc.

También se utilizan otros métodos para extraer los elementos disponibles, este es el caso de resinas de intercambio iónico de uso generalizado en Brasil (van Raij, 1999).

Otro factor importante es la rapidez con la que se requieren los resultados; así, un método es bueno si se puede realizar a gran escala en el laboratorio y que pueda efectuarse de rutina (van Raij B. C., 2009). Para cumplir con estos requerimientos de los clientes los laboratorios utilizan hasta donde sea posible extractantes multi-elementales.

## **2.1. MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS**

Por definición, de acuerdo a la ISO guía (ISO Guide 30 , 1992) un material referencia (MR) es un “material o sustancia que tiene una o varias de sus propiedades suficientemente bien establecidas para calibrar un aparato o instrumento, validar un método analítico, o asignar valores a un material o sistema”; Mientras que de acuerdo al Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) (BIPM/IEC/IFF/ILAC/ISO/IUPAP/OIML, 2009) “es un material suficientemente homogéneo y estable, con respecto a propiedades específicas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas”. Un material de referencia certificado (MRC) se define como “material de referencia que tiene certificados uno o varios de sus valores de una o más de sus propiedades por procedimientos técnicamente válidos llevados a cabo por un organismo competente”. La certificación de un organismo competente es lo que hace más confiable al MRC, así como también esto permite determinar la trazabilidad del método.

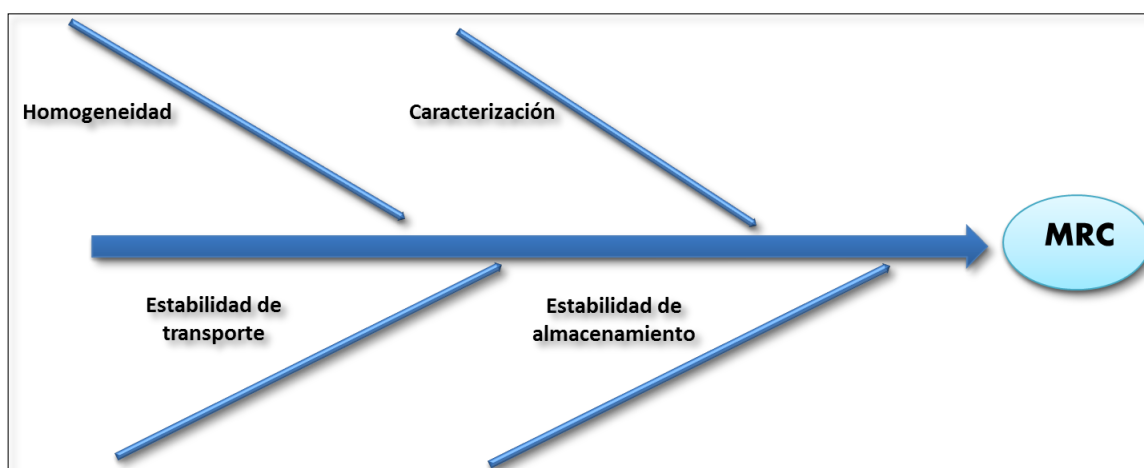
Los MRC son utilizados como una herramienta en el aseguramiento de calidad de los resultados de un laboratorio de análisis o ensayo, constituye una de las formas con mayor aceptación y fácil de aplicar para evaluar la precisión y exactitud de un nuevo método que se esté implementando, pues permite realizar el ajuste y validación del método. Un MRC incluye el certificado en el que constan los valores asignados como verdaderos en uno o varios parámetros, además consta de una incertidumbre asociada, intrínseca del

material y de las pruebas realizadas en la cuantificación del mismo. Los valores asociados reportados del material permiten ajustar la metodología de análisis y corregir errores determinados; Por ejemplo el uso de un MRC de suelo de la Wageningen Evaluating Programs (WEPAL) el ISE sample 951 en el que se reporta una media de 83.5 mg/kg de fósforo con el extractante Olsen, con un límite de confianza del 95% acepta valores entre 81.4 -85.5 mg/kg, ésta información permite al laboratorio determinar y eliminar las fuentes de error determinado.

## **2.2. PREPARACIÓN DE UN MATERIAL DE REFERENCIA**

Las propiedades físicas que debe cumplir un material de referencia (MR) son: Homogéneo, estable y debe guardar similitud (ISO Guide 30 , 1992) con las muestras a comparar. En la *Figura 1* se observan las principales consideraciones que se deben tener en la preparación de un MRC.

**FIGURA 1.** Diagrama de Ishikawa para la obtención de un MRC



La homogeneidad es sin duda una de las características de mayor relevancia en un material de referencia, es el punto de partida en la preparación y en el uso. Cuando se tratan de materiales gaseosos o líquidos es más fácil conseguir esta homogeneidad que cuando se tratan de sólidos, materiales sintetizados u obtenidos de la naturaleza, como son las muestras de suelos. En este último

caso son mezclas de diferentes materiales, desde compuestos orgánicos hasta minerales.

Al obtener un material de referencia es necesario determinar el tiempo y las condiciones bajo las cuales se mantendrá su estabilidad. El laboratorio debe seleccionar un material con características similares a las muestras que analiza cotidianamente, tanto en sus propiedades físicas como en las concentraciones a determinar. En suelos esto ha hecho que se tengan que preparar una variedad muy amplia de materiales de referencia, pues entre diferentes regiones de un mismo país cambian las propiedades de los suelos. (Grupo de Quimiometría y Cualimetría, 2016)

### **2.3. COMPARACIÓN INTERLABORATORIOS**

La IUPAC define una comparación interlaboratorios como “la organización, ejecución y evaluación de los mismos o similares ítems de ensayos por dos a más laboratorios de acuerdo a condiciones predeterminadas” (IUPAC, International Union Of Pure & Applied Chemistry, 1997). Con estas comparaciones se evalúa el desempeño de los laboratorios participantes con criterios establecidos previamente, lo que se conoce como ensayos de aptitud. Los laboratorios pueden utilizar éstas comparaciones interlaboratorios con diferentes propósitos, tales como: Controlar el funcionamiento o desempeño de los laboratorios, es una forma de identificar problemas en el laboratorio asociados a los métodos de ensayo, control de personal, calibración de equipos, etc., pueden utilizarse para crear confianza a los clientes, validar las estimaciones de incertidumbre, asignar valores a materiales de referencia interno (ISO/IEC 17043, 2010). También pueden ser utilizados en estudios o desarrollo de nuevos métodos.

Al realizar la medida de un mesurando con un método adecuado y luego de haber sido estandarizado en todas las partes del proceso, una de las principales medidas es la determinación de la exactitud, que comprende la veracidad y precisión que corresponde a la dispersión de los resultados

obtenidos y para lo cual se usa generalmente un material de referencia (IUPAC, International Union of Pure & Applied Chemistry, 1995).

## **2.4. MATERIALES DE REFERENCIA INTERNOS**

Cada laboratorio debe llevar el control de sus procesos y resultados. Una de las formas más comunes es el uso de MRC en cada lote de muestra; Sin embargo, el uso de éstos materiales resulta costoso y en algunos casos no existen para el parámetro en estudio. Por lo cual los laboratorios preparan sus propios materiales de referencia internos (MRI).

Se encuentran casos como el la obtención y caracterización de MRI para métodos bioquímicos de fosfolípidos utilizando como materia prima pulmones de conejos, para la preparación del material se realizaron varios procesos de trituración, lixiviación y centrifugación, los estudios de homogeneidad incluyeron hasta en el envasado y por dos años de analizaron para determinar la estabilidad, llegando a obtener un MRI que tiene fosfolípidos totales de  $25 \text{ mg} \pm 5\%$  (Travieso, C., S., & B., 2010). Otro estudio realizó la preparación de un MRI en la determinación de los elementos Fe, Si y Ni en el mineral laterítico realizado en Cuba, fue evaluada la homogeneidad, su caracterización realizada por tres métodos diferentes espectrofotometría ICP-OES, espectrofotometría de absorción atómica y gravimetría, llegando a la conclusión que servía como MRI para el níquel y silicio pero no para hierro, esto también permite conocer que un material no necesariamente podrá ser utilizado para todos los parámetros que el laboratorio requiera, así sean parámetros muy semejantes. (Acebal-Ibarra & Pérez, 2015). También en la industria de alimentos para elementos contaminantes es el caso de la preparación de un MRI de mercurio en una matriz de pez Alfonzino extraído de las costas chilenas, su proceso empieza con la compra del pez, la preservación en frío, preparación, homogenización, almacenamiento y caracterización química, en este tipo de matrices muy importante contar con los equipos y métodos adecuados ya que se tienen trazas de elementos, luego de todo este proceso se estima que el Hg en el MRI es de  $0.63 \text{ mg/kg}$  en base seca, con una incertidumbre asociada de  $0.02 \text{ mg/kg}$  y un nivel de confianza del 95% (Lichtenberg, 2006).

## **2.5. EXTRACTANTES PARA SUELOS CON FINES DE FERTILIZACIÓN**

De acuerdo a diccionario de la real academia de ingeniería (Real Academia de Ingeniería, 2012) un extractante es una: “sustancia o compuesto que produce químicamente la liberación o separación de otras sustancias que se encuentran en una mezcla más compleja”. En efecto, en un análisis químico de suelos la mezcla compleja está representada por el suelo y los elementos unidos a él (cationes o aniones) que se liberan o separan mediante el uso de sustancias o compuestos, que son los extractantes. En el caso de suelos el tipo de extractante va a depender de sus propiedades químicas, es decir, se asume que los extractantes ácidos son adecuados en suelos ácidos y manera similar para los básicos.

Los extractantes acuosos pueden contener en su composición sustancias ácidas como el caso de Melich que es una solución 0.05 molar de ácido clorhídrico con 0.025 molar de ácido sulfúrico, otros son mezclas de ácidos y sales, como el caso de Bray II que consiste en una solución 0.1 molar de ácido clorhídrico con 0.03M de fluoruro de amonio, también existen soluciones que contienen agentes quelantes, como el Olsen Modificado que contiene EDTA (Kass, 1996), entre otros.

## **2.6. EXTRACTANTE OLSEN MODIFICADO**

El extractante Olsen Modificado es una solución acuosa de 0.5 M de bicarbonato de sodio con 0.01M de EDTA regulado el pH a 8.5. Sterling R. Olsen y sus colaboradores desarrollaron el método de Olsen en 1954 para determinar la respuesta del cultivo a la adición de fertilizantes de P en suelos calcáreos (Historic, archived document, 1954), aunque en algunas experimentaciones también fue eficaz en suelos ácidos. (Molina Ceballos, 2012) En la década del setenta fue evaluado e implementado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) con algunas modificaciones como el uso de EDTA, como agente quelante y el superfloc 127, éste último ya

no es utilizado debido a que no existe en el mercado y los resultados no se ven alterados significativamente.

## **2.7. LOS MACRO NUTRIENTES FÓSFORO, POTASIO, CALCIO Y MAGNESIO EN SUELOS AGRÍCOLAS**

### **2.7.1. Fósforo**

El fósforo sin combinar es poco probable de encontrar en el suelo, esto se debe a que químicamente es muy reactivo, por lo que se encuentra combinado con otros elementos, proviene principalmente de la meteorización de la apatita  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$ , entre otros compuestos se forman pequeñas cantidades de los iones  $(\text{HPO}_3)^{-2}$  y  $(\text{H}_2\text{PO}_3)^{-}$  que pueden ser asimilados por la planta, por lo cual el fósforo forma sales muy poco solubles. No es un elemento que se mueva mucho en el suelo, la forma en la cual lo hace es por difusión, este es un proceso lento y más si hay poca disponibilidad de agua (INPOFOS, 1997).

En suelos agrícolas el fósforo también será añadido por los fertilizantes inorgánicos y orgánicos, sin importar su procedencia el fósforo reacciona con el calcio, hierro, aluminio y manganeso formando sales insolubles que provocan una disminución en su disponibilidad en la planta. A pesar de encontrarse una alta cantidad de fósforo en la capa cultivable, los análisis de contenido disponible muestran bajos contenidos de fósforo; Sin embargo, son suficientes para que la planta crezca ya que es sustituido por los minerales y fertilizantes entre dos a tres veces al día en la solución del suelo.

### **2.7.2. Potasio**

La forma mineral del potasio se encuentra en un 60% la corteza terrestre, formando parte de algunos minerales como los feldespatos, la ortoclasa ( $\text{KAlSi}_3\text{O}_8$ ), albita ( $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ) y anortita ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ). A pesar de que el suelo está compuesto por grandes cantidades de potasio solo una pequeña fracción está disponible para las plantas, debido a esto se lo ha clasificado de tres formas: 1) **No disponible**, también se lo conoce como no asimilable, es el que se encuentra en los minerales primarios, su liberación se demora cientos de



años por el proceso natural de meteorización o descomposición, el cual depende de los factores ambientales cómo son la temperatura y humedad. 2) **Lentamente disponible**, esta fracción de potasio se encuentra atrapado entre los coloides formados por las arcillas, los suelos más viejos y con mayor contenido de arcilla contienen menos reservas de potasio que los arcillosos. 3) **Disponible**, este potasio se encuentra en la solución del suelo retenido por adsorción en la materia orgánica y en las arcillas, también se lo conoce como intercambiable y se encuentra en equilibrio con la solución (Jiménez Díaz & Lamo de Espinoza, 2009).

### **2.7.3. Calcio**

Las cantidades de calcio en el suelo tienen una gran variación ya que dependen si son suelos calizos o no, en suelos calizos puede llegar a tener hasta un 25% de calcio y en no calizos alrededor de 0.1% de calcio. El calcio en el suelo se encuentra en varios minerales tales como la calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) que se encuentra ampliamente distribuida, aproximadamente un 4% de la corteza terrestre corresponde a éste mineral, otra fuente importante de calcio es la dolomita [ $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ], Además se encuentra en la apatita y feldspatos. El calcio es parte de los cationes intercambiables que están en la solución del suelo y es el que se encuentra en mayor proporción, alrededor del 70% y hasta en suelos de pH ácido. (INPOFOS, 1997)

### **2.7.4. Magnesio**

El magnesio se estima que se encuentra en un 23% de la corteza terrestres (Mora, 2012). Entre los minerales parentales que contienen magnesio se encuentran en mayor parte los silicatos como la Biotita  $\text{K}(\text{Mg}, \text{Fe})_3\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH}, \text{F})_2$ , también se puede encontrar como magnesita  $\text{MgCO}_3$  y en unión con el calcio en la dolomita. El magnesio también pertenece al grupo de cationes que producen reacciones de intercambio en el suelo, se encuentra en menor proporción que el calcio debido a que es adsorbido con menor intensidad por los coloides del suelo, además que es de más fácil lixiviación. (INPOFOS, 1997).

## **2.8. SUELOS DEL ORDEN INCEPTISOL, ENTISOL Y VERTISOL EN LA CUENCA BAJA DEL RÍO GUAYAS**

Según la Soil Taxonomy la forma más común de clasificación de suelos es por su Orden. En el cultivo de caña de azúcar del Ecuador los suelos con mayor superficie de sembrado son del Orden Inceptisol, Entisol y Vertisol ubicados en los ingenios San Carlos, ECUDOS y Valdez.

Los suelos del Orden Inceptisol son volcánicos de origen reciente, se encuentran próximos a los ríos y contienen material producto del desbordamiento de los mismos, en algunos casos presentar problemas de drenaje, tienen una alta capacidad de intercambio catiónico (CIC). Los Orden Entisol son jóvenes con propiedades de la roca madre con poca o ninguna evidencia de desarrollo de horizontes pedogenéticos y aportes fluviales tienen una buena fertilidad su CIC y especialmente los niveles de calcio y magnesio son altos, con considerables cantidades de arcilla. Los del Orden Vertisol son suelos minerales poco desarrollados, con un elevado contenido de arcilla pesada de tipo expansivo; alta saturación de bases y densidad aparente (Calvache, 2017) y (Ruiz, 2000)

En los cultivos de caña de la cuenca baja del río Guayas los suelos del Orden Inceptisol se encuentran en la planicie aluvial, siendo los más representativos de los ingenios, presentando en Valdez 85 %, San Carlos 52 % y ECUDOS 49% de la superficie, los suelos del Orden Entisol se encuentran en los diques, los bancos aluviales, los meandros los causes abandonados y en la planicie aluvial reciente, ocupando el segundo lugar en superficie de los ingenios: San Carlos 32 %, ECUDOS 28% y Valdez 6%. Mientras que los del Orden Vertisol se encuentran ubicados en planicies aluviales en un nivel bajo que está influenciada por los desbordes de los esteros aledaños, son poco representativos en los ingenios ocupando una superficie en San Carlos 16 %, ECUDOS 14% y Valdez 3%. (Arzola, y otros, 2007), (Spaans, González, Hernández, & Quezada, 2007) y (Valarezo, y otros, 2007)

## **2.9 ESTADÍSTICOS**

Los resultados de un ensayo de cualquier tipo va a tener siempre la influencia de factores externos, en un ensayo de análisis químico ocurre de la misma manera alterando los resultados, esto puede minimizarse entre otras cosas contando con personal capacitado y experimentado; pero a pesar de esto siempre existirán errores que el ser humano a simple vista no podrá determinar. Para ello se utiliza la estadística que permiten determinar sesgos o errores, dependiendo lo que se va a evaluar se pueden utilizar diferentes tipos de estadísticos, entre los clásicos y más comunes están los de tendencia central como la media, mediana, moda, etc. también los que permiten evaluar la dispersión de los resultados como el rango, desviación estándar, varianza, coeficiente de variación, etc. son utilizados para determinar y eliminar errores sistemáticos, otro estadístico como el Test de Grubbs ayudan a eliminar datos anómalos. A continuación se definen algunos estadísticos utilizados en la evaluación de los resultados de la presente investigación.

**Media aritmética:** En una serie de datos experimentales la media aritmética o promedio corresponde al resultado obtenido de dividir la suma de todos sus valores por el número de datos en la serie:

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$$

Donde: x son cada uno de los valores i de la variable y

n el número de datos

Cuando la media es del conjunto de toda la población se suele denotar por el símbolo  $\mu$  y cuando es la media de una muestra de la población se utiliza  $\bar{x}$ .

La media aritmética es la que se utiliza con frecuencia ya que tiene un error estándar más pequeño, es la más fácil de estimar, tiende a una distribución normal incluso, si los datos originales no presentan esta distribución y, por

último, es más sensible a cambios en la distribución de los datos, lo cual es muy importante en estadística para determinar diferencias entre serie de datos (Sokal & Rohlf, 1981). Una dificultad que presenta la media aritmética es que se ve afectada por los datos anómalos que salen del rango, los cuales tienen influencia sobre su sensibilidad. (Cástor Guisande González, 2006).

**Desviación estándar:** Uno de los problemas de la varianza es elevar las diferencias al cuadrado con el fin de evitar los valores negativos. Por lo que se utiliza la desviación estándar ( $\sigma$ ) conocida como desviación típica, en lugar de la varianza, con el fin de tener la medida de dispersión y la media en las mismas unidades. La desviación estándar se obtiene a partir de la raíz cuadrada de la varianza. (Cástor Guisande González, 2006)

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

**Coefficiente de variación:** La desviación estándar no permite realizar una comparación entre dos series de datos con medias un poco diferentes para determinar cuál de ellas tiene la mayor variación, ya que por lo general, la serie de datos con mayor media tiene también la mayor variabilidad. Por ello es recomendable el uso del coeficiente de variación (CV), éste se calcula como el porcentaje que representa a la desviación típica con respecto a la media. (Cástor Guisande González, 2006)

$$CV = \frac{s * 100}{\bar{x}}$$

**T de Student:** Si una variable sigue una distribución Normal, la media de una muestra aleatoria de esa variable también presenta una distribución Normal, y su media es la media poblacional desconocida  $\mu$ , esto puede ser utilizado para estimar  $\mu$ . Sin embargo al no conocer la  $\sigma$  de la población sólo se trabaja con

una muestra que representa el total de la población, pudiendo ocurrir que el número de observaciones de la muestra sea menor a 30, considerado pequeño. (Cástor Guisande González, 2006). En tales casos se usa la cuasi desviación típica de la muestra (s) junto con la distribución T de Student:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}}$$

Si  $|t|$  (es decir, el valor calculado de t sin tener en cuenta el signo) es mayor que un cierto valor crítico, entonces se rechaza la hipótesis nula. (James N. Miller, 2002)

#### **Test de Cochran de homocedasticidad para modelos equilibrados:**

Para el análisis de tres o más muestras tenemos el test de Cochran, que opera sobre las varianzas poblacionales (sesgadas), y solo debe ser empleado en modelos equilibrados, es decir, muestras del mismo tamaño. Su fórmula es la siguiente:

$$R = \frac{\text{máx } S_i^2}{\sum_{i=1}^k S_i^2}$$

La hipótesis nula que pone a prueba es que las muestras son homogéneas, y la aceptaremos si el valor del estadístico R es menor que el valor crítico correspondiente al caso. (Conexionismo, 2012) En concreto, el valor crítico viene determinado por:

n - que es el tamaño de las muestras, y

r - que es el número de muestras que comparamos.

#### **Prueba de Grubbs:**

Uno de los problemas más comunes y difícil de manejar dentro de un grupo de datos es el tratamiento de valores atípicos, siendo estos valores atípicos

también llamados valores aberrantes o inconsistentes, las observaciones con un valor que aparentemente no tiene correspondencia con el resto de los valores dentro del grupo. Deducir si dicho valor es en realidad atípico o no, y de ser así eliminar dicho valor y continuar con el análisis, son cuestiones tanto de identificación del valor atípico como de las herramientas básicas relacionadas con la representación gráfica y la prueba estadística; y debe saberse que las pruebas estadísticas se utilizan para identificar valores atípicos, no para retirarlos del grupo de datos.

La prueba de Grubbs utiliza una estadística de prueba,  $T$ , que es la diferencia absoluta entre el valor atípico, y el promedio de la muestra dividida por la desviación estándar de la muestra,  $s$ .

Resulta importante destacar que lo primero es considerar los datos gráficamente para identificar la posible existencia de más de un valor atípico, ya sea en la misma dirección o en la dirección opuesta, antes de utilizar la técnica de Grubbs. Estas técnicas están diseñadas para detectar un único valor atípico en un grupo de datos, y por lo tanto no son adecuadas para la detección de múltiples valores atípicos. Una técnica rigurosa y amplia para identificar eficazmente múltiples valores atípicos es el procedimiento para muchos valores atípicos con generalización extrema de la desviación de Student. (Thomas Murphy, 2008)

## **CAPÍTULO III**

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Las muestras de suelos para preparar los MRI se tomaron en tres lotes dedicados al cultivo de caña del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol, de los ingenios San Carlos, Valdez y Coazucar. La preparación de la muestra y los análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio Químico de CINCAE.

#### **3.1. MATERIALES**

##### **3.1.1. Muestreo, secado y molido**

- ✓ Pala
- ✓ Marcadores
- ✓ Sacos de lona
- ✓ Marcadores
- ✓ Etiquetas
- ✓ Bandejas de acero inoxidable
- ✓ Estufa TECNAL TE-394/3
- ✓ Trituradora de mandíbulas FRITSCH PULVERISETTE 1

##### **3.1.2. Mezclado y almacenado**

- ✓ Tanque plástico 220 litros
- ✓ Cajas con recubrimiento plastificado interno

##### **3.1.3. Preparación y lectura**

- ✓ Balanza analítica KERN ABJ 220 ( $\pm 0.0001$ g)
- ✓ Frascos de polipropileno con tapa rosca de 50ml de capacidad
- ✓ Agitador mecánico de desplazamiento horizontal EBERBACH
- ✓ Papel filtro cuantitativo CHM F2040 125 mm (LIBRE DE CENIZAS)

- ✓ Embudos de polietileno
- ✓ Gradillas de madera para tubos de 25 y 50 mL
- ✓ Potenciómetro
- ✓ Agitador Magnético
- ✓ Agitador Vortex
- ✓ Cronómetro ( $\pm 0.1$ seg.)
- ✓ Dispensadores Brand de 25mL
- ✓ Sorbona Labconco
- ✓ Balones aforados clase A, de 50, 100, 250 y de 1000mL
- ✓ Tubos de ensayo de 25 y 50 mL de capacidad
- ✓ Micropipeta Eppendorf Research de 1000 ul. (volumen variable)
- ✓ Pipeta automática Transferpette S Brand de 10000 ul. (volumen variable)
- ✓ Espátulas de acero inoxidable (20m)
- ✓ Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25
- ✓ Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer Analyst 100

### **3.2. REACTIVOS**

- ✓ Bicarbonato de sodio G.R.
- ✓ EDTA G.R. Sal disódica dihidratada, pureza mínima del 99%
- ✓ Hidróxido de sodio, perlas G.R.
- ✓ Tartrato de potasio y antimonio G.R.
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado G.R.
- ✓ Molibdato de amonio G.R.
- ✓ Ácido ascórbico G.R.
- ✓ Goma de acacia o arábiga G.R.
- ✓ Oxido de lantano G.R.
- ✓ Ácido clorhídrico concentrado G.R. pureza mínima del 37%
- ✓ Soluciones Patrón INORGANIC VENTURES referible a SRM de NIST, en HNO<sub>3</sub> 2-3%:
  - Estándar de 10000 ug.mL<sup>-1</sup> de K, KNO<sub>3</sub>
  - Estándar de 10000 ug.mL<sup>-1</sup> de Mg, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
  - Estándar de 10000 ug.mL<sup>-1</sup> de Ca, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
  - Estándar de 10000 ug.mL<sup>-1</sup> de P, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> en H<sub>2</sub>O
- ✓ Soluciones buffer pH 4, 7 y 10 Trazables a SRM de NIST y PTB Certipur



- ✓ Acetileno Grado 2.5 para análisis A.A

### **3.3. METODOLOGÍA**

#### **3.3.1. Muestreo, preparación y codificación de los suelos**

En tres lotes de los ingenios San Carlos, Valdez y Coazucar, de los órdenes de suelos Inceptisol, Entisol y Vertisol, que son los más representativos de los suelos cañeros de la cuenca baja del río Guayas, se tomaron tres muestras de suelos Figura 2, previo a la toma se limpió la superficie, con una pala se tomaron las muestras de 0 – 20 cm de profundidad (Salazar & Sánchez, 2010), se colocaron en sacos y se llevaron al Laboratorio Químico.



**FIGURA 2. Proceso de toma de muestra en suelos.**

En la Figura 3 se indica la ubicación geográfica de los puntos de muestreo. En la Figura 4 se muestran los lotes de los ingenios en los que se tomaron las muestras: En Valdez se tomó la muestra de suelo del orden Inceptisol en el lote 001-024, en el ingenio San Carlos del orden Entisol en el lote 023210 y en el ingenio Coazucar del orden Vertisol en el sector Agriflorsa A017-210, se codificaron como Materiales de Referencia Interno (MRI), determinándose como MRI 1, MRI 2 y MRI 3 respectivamente.

Elaboración y caracterización de un material de referencia interno de suelos para los macro elementos P, K, Ca y Mg extraídos con Olsen Modificado para análisis en suelos cañeros del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol de la cuenca baja del río Guayas.

MANEJO INTEGRAL  
DE LABORATORIOS  
DE DESARROLLO

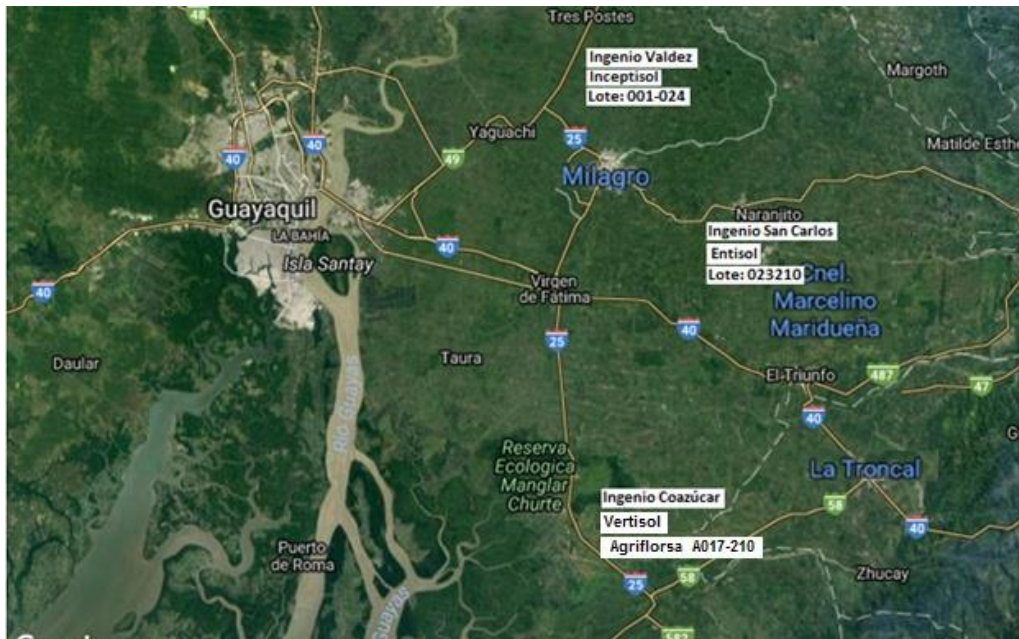


FIGURA 3. Sitios de toma de muestras de suelos: 1) Ingenio Valdez lote: 001-024 del orden Inceptisol, 2) Ingenio San Carlos lote: 023210 e Ingenio del orden Entisol y 3) Ingenio Coazucar sector, Agriflora A017-210 del orden Vertisol.



FIGURA 4. Lotes muestreados de los ingenios: 1) Valdez lote: 001-024, 2) San Carlos lote: 023210, 3) Coazucar sector Agriflora A017-210

Las muestras se llevaron al Laboratorio Químico de CINCAE, se colocaron en bandejas de acero inoxidable y secaron en una estufa con recirculación de aire forzado a 60 °C por cinco días para garantizar que esté totalmente seca, Figura 5; posteriormente se molieron en un molino tipo triturador de mandíbulas y luego pasar por un tamiz de 500  $\mu$ m.



**FIGURA 5.** Proceso de secado de muestras de suelos en la estufa de circulación de aire forzado.

Las muestras secas, molidas y tamizadas se colocaron sobre plástico y mezclaron con una pala por aproximadamente 20 minutos, posteriormente se colocaron hasta la mitad en un tanque plástico de 110 litros de capacidad, tomándose una muestra que se colocó como tiempo cero, ya en el tanque las muestras se taparon y mezclaron rodando el tanque por el lapso de 2 horas, transcurrido este tiempo se abrió y tomó una muestra, este procedimiento se repitió dos veces tomando muestras a las 4 y 6 horas, Figura 6.



**FIGURA 6.** Proceso de mezclado de las muestras de suelos MRI 1, MRI 2 y MRI 3.

Se colocó la muestra en tachos plásticos con tapa hermética para su almacenamiento

En marzo del 2017 cada una de las tres muestras del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol se dividieron en 100 sub muestras de 300 g y se colocaron en cajas de cartón plastificadas en su interior para evitar adsorban humedad, con estas muestras se realizaron las pruebas de homogeneidad. Previo a cada análisis las muestras se secaron por un día a 60 °C en estufa con sistema de extracción de aire forzado.

### **3.3.2. Extracción de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio con solución de olsen modificado**

Las muestras secas y homogéneas para cada repetición se pesaron 2.5 g en balanza analítica de apreciación  $\pm 0.0001g$  en un contenedor plástico de 50 mL de capacidad con tapa rosca, se agregaron 25ml de la solución extractante de Olsen Modificado descrita en el (**Anexo 1**), se agitó durante 10 minutos en un agitador mecánico de vaivén a 180cpm, se filtró con papel filtro cuantitativo

libre de cenizas. Sobre el extracto se cuantificaron los elementos Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio.

### 3.3.3. Preparación de soluciones estándar de fósforo, potasio, calcio y magnesio

A partir del estándar de 10000 ppm de fósforo se preparó una solución madre de 50 ppm (**Anexo 2**), de la cual se prepararon 50 mL de cinco estándares descritos en la Tabla 1.

**TABLA 1. Volúmenes de la solución madre usados para preparación de los estándares, concentraciones en las soluciones estándar y en el suelo para fósforo.**

Estándar	Volumen Sol. Madre (mL)	Concentración en la solución (ppm)	Concentración en el suelo (ppm)
<b>Blanco</b>	0.000	0.000	0.00
<b>S<sub>1</sub></b>	0.250	0.250	2.50
<b>S<sub>2</sub></b>	0.625	0.625	6.25
<b>S<sub>3</sub></b>	1.250	1.250	12.50
<b>S<sub>4</sub></b>	2.500	2.500	25.00
<b>S<sub>5</sub></b>	5.000	5.000	50.00

A partir de los estándares de 10000 ppm de potasio, calcio y magnesio se prepararon las soluciones madres de 60, 500 y 50 ppm respectivamente (**Anexo 2**) las cuales se usaron para preparar cinco estándares de 250 ml descritos en la Tabla 2.

**TABLA 2. Volúmenes de la solución madre usados para preparación de los estándares, concentraciones en las soluciones estándar y en el suelo para potasio, calcio y magnesio.**

Estándares	Solución madre (mL)	Concentración (ppm)			Concentración (meq.100g <sup>-1</sup> de suelo)		
		<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>
<b>Blanco</b>	0.0	0.00	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>S<sub>1</sub></b>	1.0	0.24	2.0	0.20	0.15	2.50	0.41
<b>S<sub>2</sub></b>	2.0	0.48	4.0	0.40	0.31	4.99	0.82
<b>S<sub>3</sub></b>	3.0	0.72	6.0	0.60	0.46	7.49	1.23
<b>S<sub>5</sub></b>	5.0	1.20	10	1.00	0.61	9.98	1.65
<b>S<sub>6</sub></b>	6.0	1.44	12	1.20	0.77	12.48	2.06

### **3.4. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA Y ULTRAVIOLETA VISIBLE**

La química analítica ha sufrido enormes avances en los últimos 100 años y dentro de ellos el uso de la Química Instrumental ha sido de especial importancia para estudios de investigación y en el análisis de rutina para la cuantificación de elementos compuestos en diferentes tipos de matrices. Sin duda, dentro de los más utilizados en la determinación cuantitativa de elementos y compuestos están los espectrofotométricos.

Los métodos espectrofotométricos se fundamentan en la determinación cuantitativa de la interacción de la radiación con la materia, la radiación más utilizada es la electromagnética, que se describe como un modelo ondulatorio sinusoidal clásico, la cual se representa por una corriente de partículas discretas, formado por ondas o energía llamados fotones. En el presente trabajo se utilizaron ultravioleta visible y absorción atómica, los cuales se encuentran dentro del rango del espectro visible, para el análisis cuantitativo utilizando estos métodos se requiere de dos medidas una antes ( $P_0$ ) y una después ( $P$ ) de que el haz pasa por el analito, que para el caso de la radiación monocromática la absorbancia es directamente proporcional a la longitud de onda  $b$  y a la concentración  $c$ , siguiendo el principio de la ley de Beer. (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

Las medidas espectrométricas con base en radiación ultravioleta son ampliamente utilizadas para la detección de grupos cromóforos, es decir de grupos de átomos responsables de bandas de absorción en las regiones ultravioleta o visible. El fundamento de espectrofotometría ultravioleta-visible está dado por la transición del analito a un estado excitado debido a la absorción de radiación ultravioleta- visible por una molécula; transmitiendo un haz de energía radiante, la cantidad de luz absorbida es medida cuantitativamente en respuesta a una longitud de onda, la absorción de las

radiaciones estarán influenciadas por las condiciones de cada sustancia y su estructura molecular (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

El proceso de absorción atómica está dado por la capacidad de absorción de energía luminosa que tiene un átomo en estado fundamental frente a una longitud de onda determinada. La cantidad de luz absorbida se incrementa de acuerdo al número de átomos que se encuentren en el trayecto de la luz, la cual proporciona una medida cuantitativa del analito en relación a su concentración, siendo la longitud de onda seleccionada así como la fuente de luz específica, quienes brinden una determinación precisa de los elementos en análisis. (Perkin-Elmer Corporation, 1996)

### **3.5. CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE**

La cuantificación de fósforo se realiza por un método espectrofotométrico utilizando molibdato de amonio para el desarrollo de color y las especificaciones descritas en la Tabla 1, la preparación de las soluciones A y B se detallan en el (**Anexo1**) y las lecturas se realizan en un espectrofotómetro UV/VIS a 680 nm siguiendo el procedimiento descrito en el (**Anexo3**)

### **3.6. CUANTIFICACIÓN DE POTASIO, CALCIO Y MAGNESIO POR ABSORCIÓN ATÓMICA**

El método utilizado para la cuantificación de los elementos potasio, calcio y magnesio es por espectrofotometría de absorción atómica por el método de llama, éste método se fundamenta en la nebulización de la muestra líquida, utilizando un oxidante y un combustible en estado gaseoso mezcla aire:acetileno relación (1:2.5), que se combustionan en una llama en la cual ocurre la atomización, las condiciones de operación del equipo se describen en la Tabla 3. La preparación de la muestra se la realizó añadiendo una solución de óxido de lantano descrita en el (anexo 1) que evita las interferencias entre el

calcio y el magnesio, las especificaciones para la determinación de estos elementos se describen en el **(Anexo 3)**.

**TABLA 3. Parámetros de operación del espectrofotómetro de absorción atómica y ultravioleta visible**

<b>Elemento</b>	<b>Slit (nm)</b>	<b>Longitud de onda (<math>\lambda</math>) (nm)</b>
K <sup>(1)</sup>	0.7	766.5
Ca <sup>(1)</sup>	0.7	422.7
Mg <sup>(1)</sup>	0.7	285.2
P <sup>(2)</sup>	0.7	680.0

(1) Absorción atómica; y, (2) Ultravioleta visible.



## **CAPÍTULO IV**

### **4. DISEÑO EXPERIMENTAL**

#### **4.1. Tiempo de mezclado del MRI**

Sobre cada muestra de los tres órdenes de suelos en estudio: Inceptisol (MRI 1), Entisol (MRI 2) y Vertisol (MRI 3) se determinan los parámetros fósforo, potasio, calcio y magnesio, de las muestras tomadas sin mezclar y a las dos, cuatro y seis horas de mezclado, realizándose 10 repeticiones para cada muestra, a los resultados se aplicó el test de Grubbs para rechazo de datos anómalos comparados con los valores críticos de G (P=0.05) en un contraste de dos colas, de acuerdo a la ecuación siguiente citada por (Miller & Miller, 2002)

$$G_{exp} = \frac{|valor\ sospechoso - Media|}{s}$$

$G_{exp} > G_{crit}$  se rechaza el resultado

Se calcula el promedio y coeficiente de variación para cada parámetro en cada uno de los materiales, por elemento se acepta un coeficiente de variación como máximo del 6%, el cual se convino como aceptable para muestras de suelos en la reunión de la RELASE realizada en el ingenio San Carlos (Red de laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador, 2012)

## **4.2. Homogeneidad del MRI**

De las 100 sub muestras de suelos obtenidas para cada orden se tomaron 14 para evaluar la homogeneidad, esta cantidad se determinó utilizando la siguiente ecuación: citada por (Lichtenberg, 2006)

$$h = 3 * \sqrt[3]{N}$$

Para la selección de cuales muestras se realizó un sorteo aleatorio en el programa Excel. Sobre éstas muestras se determinaron los contenidos disponibles de fósforo, potasio, calcio y magnesio con el extractante Olsen Modificado realizando seis repeticiones en días diferentes, el análisis estadístico de homogeneidad se realiza con un (ANOVA) con el test de la C de Cochran, en el programa estadístico XLSTAT.

## **4.3. Estabilidad del MRI**

De los tres materiales de referencia se realizó el análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado después de seis meses en las mismas 14 sub muestras de cada MRI tomadas y analizadas para homogeneidad, para la eliminar datos anómalos se utilizó el test de Grubbs comparados con los valores críticos de G (P=0.05) en un contraste de dos colas. Para determinar si existen diferencias significativas en el tiempo o estabilidad e utilizó una prueba de *t* student en un nivel de significancia de (0.05) en la siguiente ecuación:

$$t_{cal} = \frac{(media - valor\ verdadero) * \sqrt{n}}{s}$$

Donde  $t_{cal}$  es el valor calculado de t, la media es el promedio de las 14 sub muestras, el valor verdadero es el promedio de los resultados de homogeneidad, n es el número de observaciones y s es la desviación estándar de las 14 sub muestras. Si  $t_{cal}$  es mayor al  $t_{tab}$  para n-1 grados de libertad la

media muestra diferencias significativas respecto al valor tomado como referencia y si la  $t_{cal}$  es menor al  $t_{tab}$  la media no muestra diferencias significativas respecto al valor de referencia.

#### **4.4. Determinación de los valores asignados para los MRI con intercomparación de la RELASE**

Se tomaron 20g de las 14 sub muestras sorteadas para cada orden de suelo procediéndose a mezclar, utilizando un agitador de vaivén a 180 oscilaciones por minuto por el lapso de una hora. Se pesaron 25 g y se colocaron en fundas ziploc y se envía a siete laboratorios pertenecientes a la RELASE, además del laboratorio de CINCAE. La coordinación realizada por Agrocalidad solicita se realicen los análisis de los parámetros P, K, Ca y Mg extraídos con Olsen Modificado y se envíen los resultados con cinco repeticiones. Los laboratorios enviaron los resultados, los cuales fueron procesados estadísticamente determinando la normalidad de ellos en cada parámetro, rechazo de datos discrepantes, promedios, coeficiente de variación y z-score; y, finalmente se emitió el informe (Jaramillo, 2017).

#### **4.5. Estimación de la precisión, exactitud y recuperación de los métodos de análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio en suelos con el extractante Olsen Modificado**

Con los resultados de análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de las 14 sub muestras en los tres MRI utilizadas en la determinación de homogeneidad, se estiman la precisión utilizando los estadísticos desviación estándar y coeficiente de variación.

$$\%CV = \frac{s*100}{\bar{X}}$$

La exactitud de los resultados se estima utilizando los valores asignados a los promedios de los resultados de las pruebas interlaboratorios con las muestras de los materiales de referencia internos realizada por la RELASE como valores asignados o verdaderos.

$$\% \text{ Error} = \frac{X_{exp} - X_{real}}{X_{real}} * 100$$

Donde:

$X_{exp}$  = Promedio de 84 repeticiones realizadas en CINCAE

$X_{real}$  = Promedio RELASE

La recuperación se estima como la relación en porcentaje entre los resultados obtenidos por el laboratorio (promedios de las pruebas de homogeneidad) con los valores asignados o verdaderos.

$$\% \text{ Recuperación} = 100 * \frac{X_{exp}}{X_{real}}$$

#### **4.6. Estimación de la incertidumbre y límites de confianza para las determinaciones fósforo, potasio, calcio y magnesio en los tres MRI**

El promedio de cada parámetro en estudio en los tres MRI se estimará como el promedio de los resultados de las 14 sub muestras analizadas en seis días diferentes. Mientras que la incertidumbre de los materiales de referencia internos, se obtienen de la suma de las fuentes de incertidumbres que tiene el método de análisis y de la muestra, considerándose a las siguientes: la curva de calibración, la reproducibilidad del método, de los equipos y estándares, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$U_{MRI}^2 = \sum U_{calibración}^2 + U_{reproducibilidad}^2 + U_{equipos}^2 + U_{estándares}^2$$

Las incertidumbres parciales se obtuvieron de la siguiente forma: la calibración se obtuvo de repeticiones de cinco días de los estándares que se usan para preparar la curva de calibración y utilizando el criterio de mínimos cuadrados, para la determinación de la reproducibilidad con los resultados de las 14 muestras en seis días diferentes y las de los equipos y estándares de los certificados de calibración.

Se determinarán los intervalos de confianza y dentro de éstos los límites de confianza con una probabilidad del 95%, para lo cual se usa  $z = 1.96$  de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\bar{X} \pm z s / \sqrt{n}$$

Donde:

$z$  = Constante para límites de confianza del 95% es 1.96

$s$  = Desviación estándar de la población

$n$  = Número de determinaciones de la población

## CAPÍTULO V

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1. TIEMPO DE MEZCLADO DEL MRI

A los resultados obtenidos del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio con Olsen Modificado y que se muestran en las tablas 16, 17 y 18 para los MRI 1, MRI 2 y MRI 3, sin mezclar y dos, cuatro y seis horas (T1, T2, T3 y T4 respectivamente) de mezclado se aplicó el análisis estadístico del test de Grubbs al 95% de probabilidad con el cual se eliminan datos extremos anómalos, encontrándose que para MRI 1 en el fósforo se rechazaron el extremo bajo del T1 y el extremo alto del T4, mientras que en potasio y calcio no se encontraron datos anómalos y en el magnesio se rechazó el extremo alto de T4, como se puede observar en la Tabla 4.

**TABLA 4. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 10 datos ( $G_{crit}: 2.29$ ) en muestras del MRI 1 tomadas sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado**

Elemento	T1		T2		T3		T4	
	$G_{exp.}$	V.S.	$G_{exp.}$	V.S.	$G_{exp.}$	V.S.	$G_{exp.}$	V.S.
<b>P</b> (ppm)	2.53	11.15*	2.04	11.12	1.68	11.47	0.82	11.89
	1.12	14.60	2.08	13.52	1.49	13.72	2.55	14.30*
<b>K</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.59	0.35	1.66	0.35	1.84	0.33	1.01	0.37
	1.94	0.37	1.90	0.38	2.16	0.38	1.52	0.39
<b>Ca</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.40	16.71	1.69	16.56	1.84	16.06	1.64	16.56
	1.70	17.88	1.40	17.89	1.56	17.95	1.29	17.76
<b>Mg</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.11	6.45	1.19	6.25	1.58	6.55	1.30	6.43
	2.06	6.65	1.86	6.66	1.29	6.77	2.59	6.58*

$G_{exp.}$ : Valor calculado de Grubbs con el menor y mayor valor respectivamente; **V.S.:** Valor sospechoso y \*: Valor rechazado.

En la Tabla 5 se encuentran los resultados del test Grubbs del MRI 2, observándose que en los elementos fósforo y magnesio no existieron datos

anómalos, en el potasio se eliminó el extremo bajo de T3, pero hay que notar que son muy cercanos en magnitud los valores alto y bajo de 0.20 a 0.21 meq.100 g<sup>-1</sup>, en calcio se rechazó como dato anómalo el extremo alto de T1.

**TABLA 5. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 10 datos (Gcrit: 2.29) en muestras del MRI 2 tomadas sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado**

Elemento	T1		T2		T3		T4	
	G <sub>exp.</sub>	V.S.	G <sub>exp.</sub>	V.S.	G <sub>exp.</sub>	V.S.	G <sub>exp.</sub>	V.S.
<b>P</b> (ppm)	2.17	30.74	1.66	29.28	1.69	32.68	0.97	30.76
	1.77	31.77	1.86	31.33	1.52	33.15	1.78	31.38
<b>K</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	0.62	0.20	2.28	0.18	2.85	0.20*	0.32	0.18
	1.45	0.21	1.52	0.21	0.32	0.21	2.85	0.19*
<b>Ca</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.62	16.14	2.27	16.15	1.24	16.45	1.81	15.30
	2.35	17.00*	1.15	16.57	2.10	16.82	2.20	15.67
<b>Mg</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.65	4.19	1.82	4.26	1.77	4.26	1.19	4.03
	1.43	4.36	1.76	4.39	2.12	4.37	1.43	4.29

G<sub>exp.</sub>: Valor calculado de Grubbs con el menor y mayor valor respectivamente; V.S.: Valor sospechoso y \*: Valor rechazado.

Los resultados del MRI 3 que se encuentran en la Tabla 6 de los elementos fósforo, potasio y magnesio no muestran ningún dato anómalo, únicamente el calcio en el extremo bajo de T1 se rechazó, a pesar de que los valores en magnitud son cercanos de 10.60 a 10.71 meq.100g<sup>-1</sup>.

**TABLA 6. Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 10 datos (Gcrit: 2.29) en muestras del MRI 3 tomadas sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado**

Elemento	T1		T2		T3		T4	
	G <sub>exp.</sub>	V.S.	G <sub>exp.</sub>	V.S.	G <sub>exp.</sub>	V.S.	G <sub>exp.</sub>	V.S.
<b>P</b> (ppm)	1.26	4.80	1.69	4.74	1.46	4.65	1.50	5.02
	2.12	6.37	1.56	5.62	1.39	5.72	1.87	5.31
<b>K</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.01	0.28	0.95	0.29	1.16	0.28	0.47	0.29
	1.52	0.30	0.95	0.30	0.77	0.29	1.90	0.30
<b>Ca</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	2.54	10.60*	1.35	10.67	1.87	10.53	1.64	10.65
	0.87	10.71	1.72	11.11	1.03	10.71	2.12	10.79
<b>Mg</b> (meq.100g <sup>-1</sup> )	1.72	3.47	1.61	3.51	2.00	3.52	1.61	3.42
	2.15	3.67	1.15	3.57	1.45	3.57	1.61	3.51

G<sub>exp.</sub>: Valor calculado de Grubbs con el menor y mayor valor respectivamente; V.S.: Valor sospechoso y \*: Valor rechazado.

Eliminados los datos anómalos se determinaron los estadísticos media, desviación estándar y coeficiente de variación de los diferentes elementos para cada uno de los materiales de referencia internos, en la Tabla 7 se puede observar que para el fósforo el coeficiente variación se encuentra mayor al 6% en T1 en MRI 1 y MRI 3, lo cual es comprensible ya que la muestra no se ha mezclado por lo cual existe una heterogeneidad de la muestra; sin embargo, en T3 del MRI 3 puede deberse a errores sistemáticos en el análisis ya que en este mismo material los coeficientes de variación para T2 es de 5.2 y en T4 de 1.5, lo que sugiere existe una tendencia a mejorar la homogeneidad con el tiempo de la mezcla y el coeficiente de variación de T3 debería estar entre éstos valores.

**TABLA 7. Determinación de los estadísticos media, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV), a las cero, dos, cuatro y seis horas de mezclado de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3**

		MRI 1			MRI 2			MRI 3		
Estadístico		Media	DS	CV	Media	DS	CV	Media	DS	CV
<b>P*</b>	T1	13.42	0.92	6.9	31.31	0.26	0.8	5.28	0.33	6.2
	T2	12.31	0.58	4.7	30.25	0.58	1.9	5.20	0.27	5.2
	T3	12.66	0.71	5.6	32.93	0.15	0.4	5.20	0.38	7.2
	T4	12.54	0.73	5.8	31.00	0.22	0.7	5.16	0.08	1.5
<b>K**</b>	T1	0.36	0.006	1.6	0.20	0.005	2.4	0.29	0.008	2.7
	T2	0.36	0.008	2.3	0.20	0.008	4.0	0.30	0.005	1.8
	T3	0.35	0.013	3.5	0.21	0.000	0.0	0.29	0.005	1.8
	T4	0.38	0.008	2.1	0.18	0.000	0.0	0.29	0.004	1.4
<b>Ca**</b>	T1	17.24	0.38	2.2	16.43	0.13	0.8	10.68	0.03	0.3
	T2	17.29	0.43	2.5	16.43	0.12	0.7	10.86	0.14	1.3
	T3	17.08	0.56	3.3	16.59	0.11	0.7	10.65	0.06	0.6
	T4	17.23	0.41	2.4	15.47	0.09	0.6	10.71	0.04	0.3
<b>Mg**</b>	T1	6.52	0.06	1.0	4.28	0.06	1.3	3.56	0.05	1.5
	T2	6.41	0.13	2.1	4.33	0.04	0.8	3.55	0.02	0.6
	T3	6.67	0.08	1.1	4.31	0.03	0.7	3.55	0.01	0.4
	T4	6.47	0.02	0.3	4.13	0.09	2.2	3.46	0.02	0.7

**T1:** Muestra sin mezclar; **T2:** Muestra + 2 horas de mezclado; **T3:** Muestra + 4 horas de mezclado **T4:** Muestra + 6 horas de mezclado; \* En unidades de ppm y \*\* En unidades meq.100g<sup>-1</sup>



## 5.2. Homogeneidad del MRI

En la Tabla 8 se han colocado el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los análisis de las 14 sub muestras tomadas de cada lote de 100 sub muestras para cada uno de los tres materiales de referencia interno, con los resultados de las determinaciones del fósforo, potasio, calcio y magnesio extraídos con Olsen Modificado y que se encuentran en las Tablas 19, 20 y 21 del fósforo, 22, 23 y 24 del potasio, 25, 26 y 27 del calcio y 28, 29 y 30 del magnesio de MRI 1, MRI 2 y MRI 3 respectivamente. Los coeficientes de variación en el potasio muestran una mayor variabilidad en los tres materiales de referencia, mostrando la tendencia que al disminuir la concentración del analito aumenta el coeficiente de variación, mientras tanto en los tres materiales son muy similares los CV para el fósforo entre 4.7 a 4.9%, en el calcio entre 3.4 a 4.0% y el magnesio entre 4.4 a 4.6%, que se encuentran dentro de lo que la RELASE tiene como referencia y que es menor al 6% de CV.

**TABLA 8. Promedios, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) del análisis de P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras tomadas para homogeneidad de los materiales MRI 1, MRI 2 y MRI 3.**

Elementos	Unidades	MRI 1			MRI 2			MRI 3		
		Media	DS	CV	Media	DS	CV	Media	DS	CV
<b>P</b>	<b>ppm</b>	12.07	0.58	4.8	30.98	1.44	4.7	5.59	0.28	4.9
<b>K</b>	<b>meq.100g-1</b>	0.380	0.009	2.4	0.184	0.012	6.4	0.275	0.015	5.5
<b>Ca</b>		17.89	0.72	4.0	15.18	0.60	3.9	10.58	0.36	3.4
<b>Mg</b>		6.26	0.28	4.5	4.25	0.19	4.4	3.58	0.16	4.6

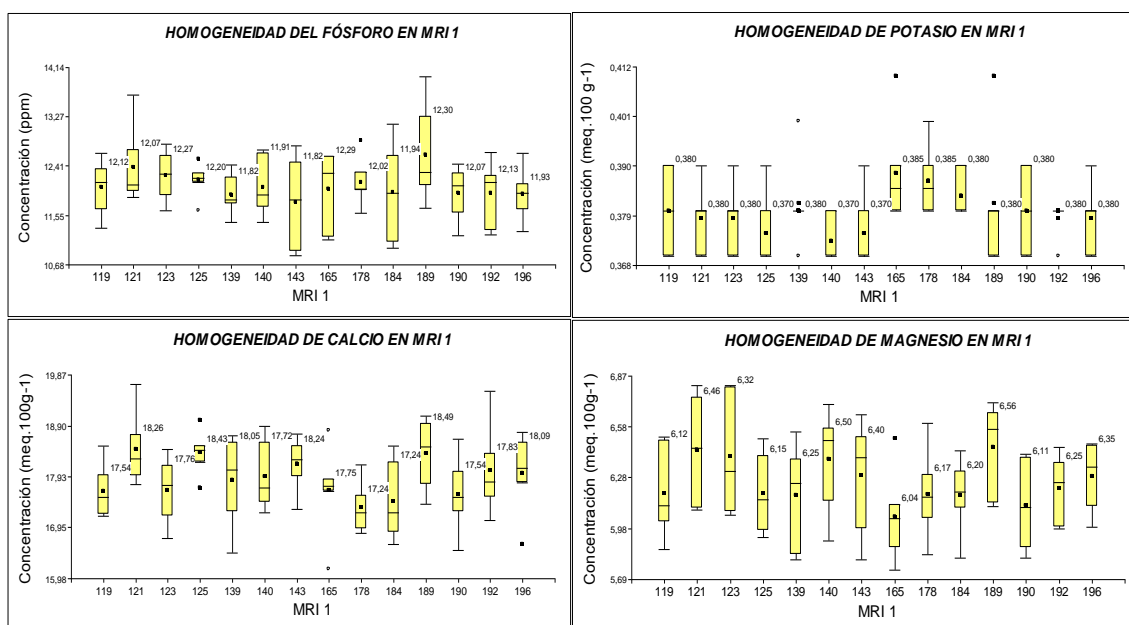
Del análisis estadístico para la C de Cochran con el 95% de probabilidad para los materiales de referencia internos MRI 1, MRI2 y MRI 3 de 14 sub muestras con seis repeticiones que se reportan en las tablas 31, 32 y 33 del fósforo, 34, 35 y 36 de potasio, 37, 38 y 39 de calcio y 40, 41 y 42 de magnesio, se pueden observar en la Tabla 9, mostrando que el  $C_{\text{observado}}$  en los cuatro elementos son menores al  $C_{\text{crítico}}$ , lo que indica que no existen diferencias significativas de las 14 sub muestras por cada material de referencia interno, lo que indica que los materiales son homogéneos y que los métodos de análisis se encuentran estandarizados y controlados.

**TABLA 9. Resultados de test C Cochran (95 % probabilidad) en la determinación de homogeneidad de tres materiales de referencia internos en los parámetros P, K, Ca y Mg.**

Materiales de Referencia Internos	P	K	Ca	Mg
	C (valor observado)			
MRI 1	0.152	0.205	0.035	0.065
MRI 2	0.188	0.143	0.202	0.246
MRI 3	0.217	0.172	0.163	0.078
<b>C (Valor crítico)</b>	<b>0.232</b>			

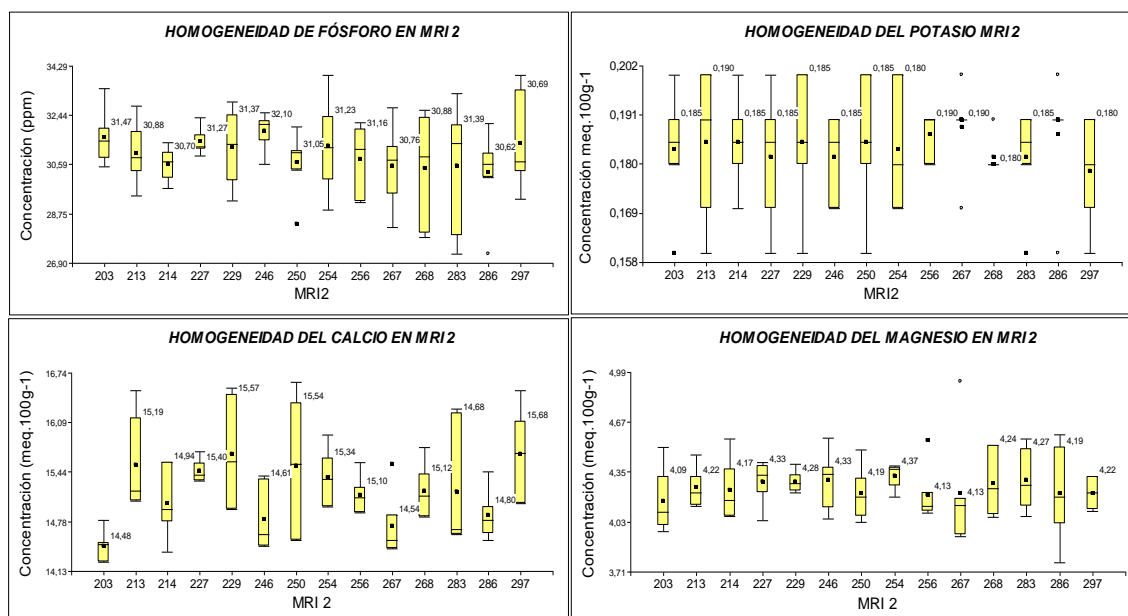
Gráficamente se observa que las 14 sub muestras en los cuatro parámetros analizados fósforo, potasio, calcio y magnesio son homogéneos como se puede observar en la Figura 7 para en MRI 1, el fósforo con una media general de 12.07 ppm, la sub muestra de menor promedio es de 11.82 ppm y la de mayor de 12.30 ppm, en el potasio con una media general de 0.380 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra con menor promedio es de 0.370 meq.100g<sup>-1</sup>, mientras que el promedio mayor es de 0.385 meq.100g<sup>-1</sup>, en el calcio con una media general de 17.89 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio es de 17.24 meq.100g<sup>-1</sup> y la de mayor es de 18.49 meq.100g<sup>-1</sup> y en magnesio con una media general de 6.26 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio es de 6.04 meq.100g<sup>-1</sup> y el mayor es de 6.56 meq.100g<sup>-1</sup>.

**FIGURA 7. Gráfico de cajas (Box Plot) del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 1.**



En la Figura 8 para en MRI 2, el fósforo presenta un promedio general de 30.98 ppm, la sub muestra de menor promedio es de 30.62 ppm y la mayor de 32.10 ppm, en el potasio con promedio general de 0.184 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra con menor promedio es de 0.180 meq.100g<sup>-1</sup>, mientras que el promedio mayor es de 0.190 meq.100g<sup>-1</sup>, el calcio con promedio general de 15.18 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio es de 14.48 meq.100g<sup>-1</sup> y la de mayor es de 15.68 meq.100g<sup>-1</sup> y en magnesio con una media general de 4.25 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio es de 4.09 meq.100g<sup>-1</sup> y el mayor es de 4.37 meq.100g<sup>-1</sup>.

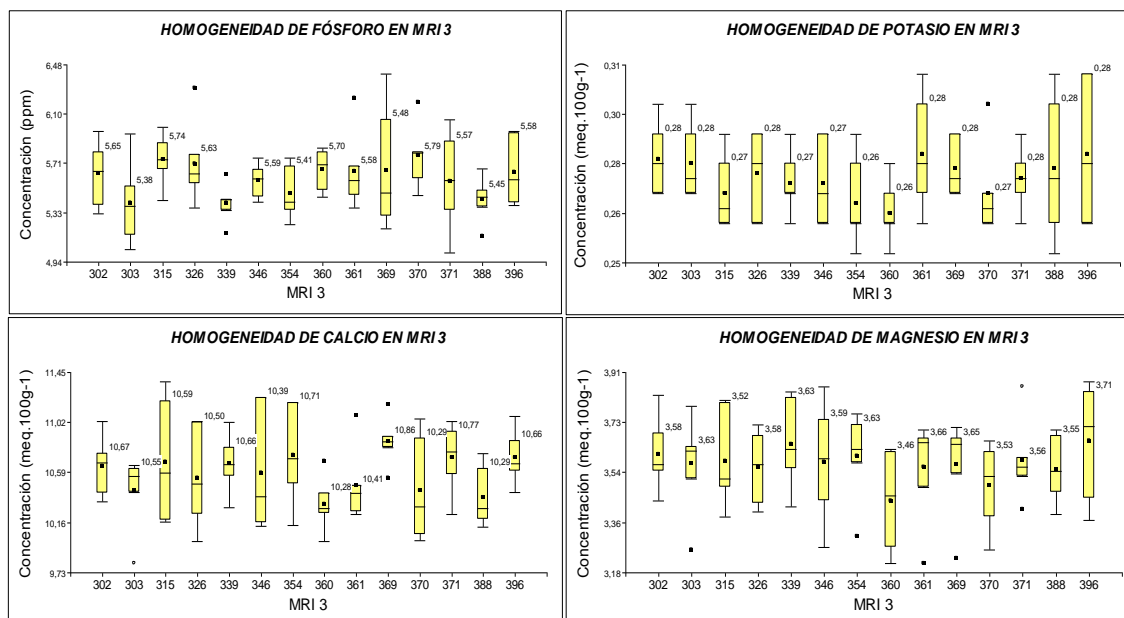
**FIGURA 8. Gráfico de cajas (Box Plot) del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 2.**



En la Figura 9 para el MRI 3, al realizar el análisis de los promedios de las 14 sub muestras y el promedio general de los resultados de homogeneidad, para el fósforo resulta un promedio general de 5.59 ppm, siendo la sub muestra de menor promedio de 5.38 ppm y la mayor de 5.74 ppm, en el potasio el promedio general es de 0.275 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra con menor promedio es de 0.260 meq.100g<sup>-1</sup>, mientras que el promedio mayor es de 0.280 meq.100g<sup>-1</sup>, el calcio con promedio general de 10.58 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio es de 10.28 meq.100g<sup>-1</sup> y la de mayor es de 10.86 meq.100g<sup>-1</sup> y en magnesio con una media general de 4.25 meq.100g<sup>-1</sup>,

la sub muestra de menor promedio es de 4.09 meq.100g<sup>-1</sup> y el mayor es de 4.37 meq.100g<sup>-1</sup>.

**FIGURA 9. Gráfico de cajas (Box Plot) del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 3.**



La evaluación de los promedios y los gráficos indican que los resultados de las sub muestras se encuentran distribuidas normalmente, evidenciando así que las muestras y los resultados obtenidos son homogéneos.

### 5.3. Estabilidad del MRI

En la Tabla 10 se encuentra los resultados del rechazo de datos anómalas aplicando el test de Grubbs para los resultados que se encuentran en las Tablas 43, 44 y 45 análisis en fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado de los materiales MRI 1, MRI 2 y MRI 3 de las mismas 14 sub muestras tomadas para la determinación de homogeneidad, pero luego de seis meses de haberse mantenido en las condiciones de laboratorio. En el MRI 1 se eliminó el valor alto de fósforo y el valor bajo de calcio, en el MRI 2 se eliminaron los valores altos de potasio y calcio, mientras que en el MRI 3 no se eliminó ningún dato.

**TABLA 10.** Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 14 datos ( $G_{crit}$  2.37) en el análisis de P, K, Ca y Mg en muestras del MRI 1, MRI 2 y MRI 3 analizadas para estabilidad a los seis meses.

Elemento	Unidades	MRI 1		MRI 2		MRI 3	
		$G_{exp}$	V.S.	$G_{exp}$	V.S.	$G_{exp}$	V.S.
P	ppm	0.85	11.83	1.33	30.20	1.68	5.30
		3.13	13.69*	1.64	32.53	1.50	5.83
K	meq.100g <sup>-1</sup>	1.41	0.37	1.16	0.17	1.57	0.26
		1.97	0.39	2.54	0.23*	1.36	0.29
Ca	meq.100g <sup>-1</sup>	2.42	16.62*	1.48	14.95	1.32	10.47
		1.57	18.40	2.33	15.97*	1.61	10.98
Mg	meq.100g <sup>-1</sup>	1.87	6.17	1.87	4.15	2.09	3.46
		1.42	6.41	1.42	4.39	2.09	3.65

**G<sub>exp</sub>.**: Valor calculado de Grubbs con el menor y mayor valor respectivamente; **V.S.**: Valor sospechoso y  
\*: Valor rechazado

Se determinó la media, desviación estándar y coeficiente de variación que se pueden observar en la Tabla 11, pudiendo determinar que el CV cumple en la mayoría de los materiales y elementos la condición de RELASE de ser menor a 6%, excepto en el MRI 2 para el caso del análisis del potasio que se obtuvo el 6.0%, cabe señalar que en la determinación de homogeneidad en este mismo material y elemento se encontró un CV del 6.4% lo que indica que es el elemento el que presenta esta matriz mayores variaciones en los resultados.

**TABLA 11.** Determinación de los estadísticos media, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) en la estabilidad a los seis meses de los tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3

Estadístico	MRI 1				MRI 2				MRI 3			
	P	K	Ca	Mg	P	K	Ca	Mg	P	K	Ca	Mg
Media	12.11	0.38	17.70	6.31	31.24	0.19	15.35	4.29	5.58	0.28	10.70	3.56
DS	0.21	0.01	0.45	0.07	0.78	0.01	0.27	0.07	0.17	0.01	0.17	0.05
CV	1.7	1.4	2.5	1.2	2.5	6.0	1.7	1.7	3.0	2.7	1.6	1.3

Finalmente con los resultados obtenidos se aplicó el estadístico t con el cual se evalúa la media de los resultados con un valor conocido o tomado como verdadero, para lo cual se tomó el promedio de homogeneidad, obteniéndose

que no existieron diferencias significativas en los tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3 en los cuatro elementos analizados fósforo, potasio, calcio y magnesio luego de seis meses.

**TABLA 12.** Aplicación del estadístico t (  $t_{tab}$  2.18) en la comparación de la media de 14 datos y el valor asignado como verdadero en la determinación de estabilidad de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3.

t-Student			
Elemento	MRI 1	MRI 2	MRI 3
P	0.66	1.06	0.19
K	2.01	2.03	1.78
Ca	1.35	1.97	2.17
Mg	2.01	1.58	1.74

#### 5.4. Determinación de los valores asignados para los MRI con intercomparación de la RELASE

La coordinación de la RELASE recibió los resultados de los laboratorios, incluido los de CINCAE, después de realizar el tratamiento estadístico respectivo emite el informe en el que se presenta los promedios, desviación estándar y coeficientes de variación. El promedio de todos los laboratorios de cada uno de los parámetros analizados en cada muestra o MRI representa el valor asignado, mientras el coeficiente de variación nos permite determinar la normalidad de los análisis. Un resumen se muestra en la Tabla 13

**TABLA 13.** Promedios, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) de los análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado de los tres MRI realizados en un ensayo interlaboratorios de la RELASE

MATRICES	ESTADÍSTICOS	P	K	Ca	Mg
		ppm	meq.100g <sup>-1</sup> .		
S-1701 (MRI 1)	<b>MEDIA</b>	<b>11.42</b>	<b>0.36</b>	<b>17.11</b>	<b>6.27</b>
	DS	1.22	0.03	3.06	0.36
	CV	10.65	9.11	17.90	5.74
S-1702 (MRI 2)	<b>MEDIA</b>	<b>32.93</b>	<b>0.18</b>	<b>14.65</b>	<b>4.19</b>
	DS	5.73	0.02	0.68	0.21
	CV	17.41	8.88	4.65	5.10
S-1703 (MRI 3)	<b>MEDIA</b>	<b>4.97</b>	<b>0.25</b>	<b>11.13</b>	<b>3.49</b>
	DS	0.76	0.03	0.80	0.23
	CV	15.23	12.98	7.15	6.46

## **5.5. Cálculo de la precisión, exactitud y recuperación de los métodos de análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio en suelos con el extractante Olsen Modificado**

Los resultados del análisis de las 14 sub muestras para fósforo, potasio, calcio y magnesio en los tres MRI utilizados para homogeneidad se utilizaron para la determinación del coeficiente de variación, utilizando los promedios y las desviaciones estándar, como se puede observar en la Tabla 8. Los coeficientes de variación están para el fósforo en los tres materiales de referencia internos están alrededor de 5.0%. En el caso del potasio CV entre 2.4% hasta 6.4% siendo el menor para la concentración más baja y el mayor para la alta. El calcio tiene valores de CV que van desde 3.4% hasta 4.0% para los tres materiales de referencia, las magnitudes son altas en las tres muestras. Finalmente en magnesio muestra coeficientes de variación de entre 4.4% hasta 4.6% en los tres MRI, también con contenidos alto de magnesio en la matriz.

Con los resultados de los promedios de fósforo, potasio, calcio y magnesio realizados en el Laboratorio Químico de CINCAE que están reportados en la Tabla 8 y los promedios en los mismos parámetros de la RELASE Tabla 13 se estimó la exactitud del Laboratorio Químico, tomando como error de la medida o el porcentaje de recuperación Tabla 14. Las recuperaciones del fósforo muestran que a menor concentración de analito mayor porcentaje de recuperación, para el MRI 3 con una media de 5.59 ppm de fósforo un porcentaje de recuperación de 112.5%, mientras que para el contenido alto 30.98 ppm MRI 2 el porcentaje de recuperación es el menor 94.1%. El potasio tiene la mayor recuperación 110.1% en el contenido medio  $0.28 \text{ meq.}100\text{g}^{-1}$  de los tres materiales MRI 3 y la menor recuperación 102.1 en el contenido bajo  $0.18 \text{ meq.}100\text{g}^{-1}$  MRI 2. El calcio muestra la tendencia que a una mayor concentración de analito existe una mayor recuperación. El magnesio muestra una tendencia inversa es decir a una mayor concentración de analito un menor porcentaje de recuperación; Sin embargo hay que mencionar que los porcentajes de recuperación son muy cercanos, están entre 99.8 a 102.5%. El error solo en el caso del fósforo sobrepasa el 10% en el MRI 3, obteniendo

11.1% y en la misma muestra el caso del potasio llega a tener 9.2%, para los otros elementos y muestras oscilan alrededor del 5%, llegando has 0.2% en el magnesio para el MRI 1.

**TABLA 14. Porcentajes de recuperación (Rec.) y error de los resultados de fósforo, potasio, calcio y magnesio del laboratorio Químico con relación a los resultados de un interlaboratorios de la RELASE**

MATRICES	P		K		Ca		Mg	
	%							
	Rec.	Error	Rec.	Error	Rec.	Error	Rec.	Error
<b>MRI 1</b>	105.7	5.4	105.5	5.2	104.6	4.4	99.8	0.2
<b>MRI 2</b>	94.1	6.3	102.1	2.1	103.6	3.5	101.4	1.4
<b>MRI 3</b>	112.5	11.1	110.1	9.2	95.1	5.2	102.5	2.4

### **5.6. Cálculo de las incertidumbres y límites de confianza para las determinaciones de fósforo, potasio, calcio y magnesio con el extractante Olsen Modificado en los MRI 1, MRI 2 y MRI 3**

Para cada uno de los elementos se determinaron las fuentes de incertidumbre, siendo de forma general la asociada con la precisión del método evaluada con los estándares y la curva de calibración, la reproducibilidad que se determinó con un análisis de 14 sub muestras realizadas en seis días diferentes para cada MRI, de los estándares y de los equipos que intervienen en las diferentes etapas del análisis. Como resultado de esto se obtuvieron las incertidumbres asociadas al método que se muestran en la Tabla 15.

La incertidumbre relacionada con el promedio y presentada en porcentaje muestra para el fósforo, potasio y magnesio muestra que a menor valor en magnitud del analito mayor es la incertidumbre, como por ejemplo el fósforo en el MRI 3 tiene con un valor de 5.59 ppm con un % de incertidumbre de 10.4%, en el MRI 2 con un valor de 12.07 ppm es de 8.3% y para el MRI 3 con un valor de 30.98 ppm de 7.2%. Para el magnesio existe una discordancia entre el valor medio 4.25 meq.100g<sup>-1</sup> y alto de 6.26 meq.100g<sup>-1</sup> cuyas incertidumbres son 6.4% y 7.3%. Pero en forma general las incertidumbres porcentuales están



entre 3.4% hasta 11.9% y la mayoría se encuentra menores a 10%, lo cual nos indica que se tienen valores aceptables y más al ser muestras de suelos que son por naturaleza heterogéneas.

En la Tabla 15 también se presentan otras medidas de dispersión como la desviación estándar, el coeficiente de variación y los límites de confianza al 95% de probabilidad, que le servirán al Laboratorio Químico de CINCAE en el control de sus análisis.

**TABLA 15. Promedio, incertidumbre expandida, desviación estándar (DS), coeficiente de variación (CV) y límite de confianza de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3 en la cuantificación con Olsen Modificado de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio**

Material	Elemento	u		% u	DS	CV %	95% (límite de confianza)	
		Media	Expandida (±)					
MRI 1	<b>P</b>	12.07	1.00	8.3	0.58	4.8	11.95	12.20
MRI 2		30.98	2.40	7.2	1.44	4.7	30.67	31.29
MRI 3		5.59	0.58	10.4	0.28	4.9	5.53	5.65
MRI 1	<b>K</b>	0.38	0.01	3.4	0.01	2.4	0.378	0.382
MRI 2		0.18	0.02	11.9	0.01	6.4	0.181	0.186
MRI 3		0.28	0.03	9.4	0.02	5.5	0.272	0.278
MRI 1	<b>Ca</b>	17.89	0.98	5.5	0.72	4.0	17.74	18.05
MRI 2		15.18	0.87	5.8	0.60	3.9	15.06	15.31
MRI 3		10.58	1.00	9.4	0.36	3.4	10.51	10.66
MRI 1	<b>Mg</b>	6.26	0.46	7.3	0.28	4.5	6.20	6.32
MRI 2		4.25	0.27	6.4	0.19	4.4	4.21	4.29
MRI 3		3.58	0.28	7.8	0.16	4.6	3.54	3.61

## **CAPÍTULO VI**

### **6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

De forma general se concluye que se caracterizaron y con su incertidumbre asociada tres materiales de referencia interno MRI 1, MRI 2 y MRI 3, en matrices de suelos del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol, en la determinación de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio utilizando el extractante Olsen Modificado, obteniéndose para el MRI 1 en el caso de fósforo  $12.07 \pm 1.00$  ppm, potasio  $0.38 \pm 0.01$  meq. $100g^{-1}$ , calcio  $17.89 \pm 0.98$  meq. $100g^{-1}$ , magnesio  $6.26 \pm 0.46$  meq. $100g^{-1}$ . En el MRI 2 para el fósforo  $30.98 \pm 2.40$  ppm, potasio  $0.18 \pm 0.02$  meq. $100g^{-1}$ , calcio  $15.18 \pm 0.87$  meq. $100g^{-1}$ , magnesio  $4.25 \pm 0.27$  meq. $100g^{-1}$ . En el MRI 3 para el fósforo  $5.59 \pm 0.58$  ppm, potasio  $0.28 \pm 0.03$  meq. $100g^{-1}$ , calcio  $10.58 \pm 1.00$  meq. $100g^{-1}$ , magnesio  $3.58 \pm 0.28$  meq. $100g^{-1}$ . Estos materiales pueden ser utilizados en el control de calidad de los análisis de suelos, incluyéndolos en cada lote de muestra y evaluar si se encuentra dentro de los intervalos de confianza, con lo cual se aceptarían los resultados del lote.

Con el test de Cochran realizado a las 14 sub muestras con seis repeticiones determinó que los tres materiales de referencia internos en los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio son homogéneos al presentar valores de  $C_{crítico}$  menores a 0.232 en todos los casos.

Los tres materiales MRI 1, MRI 2 y MRI 3 no mostraron diferencias significativas para los cuatro elementos analizados fósforo, potasio, calcio y magnesio luego de seis meses de haber realizado las pruebas de homogeneidad, utilizando el estadístico t para 14 datos en el que se avaluó si

existen diferencias con los resultados obtenidos en las pruebas de homogeneidad.

Los coeficientes de variación de los análisis y resultados de 84 repeticiones para cada MRI permiten concluir que se tiene una buena precisión ya que en los tres materiales presentan valores menores al 5% de CV, solo para el potasio en el MRI 2 es de 6.3. En la determinación de la exactitud al no tener MRCs en suelos en los parámetros en estudio, se utilizó un ensayo interlaboratorios para estimar el valor asignado, los promedios de la RELASE y los obtenidos por el Laboratorio Químico de CINCAE se compararon utilizando la determinación del error porcentual y el porcentaje de recuperación, llegando a la conclusión de que los resultados del Laboratorio Químico tienen una buena exactitud pues presentan errores alrededor del 5% en los cuatro elementos analizados en el MRI 1 y MRI 2; y, en el calcio y magnesio del MRI 3, solo el fósforo y potasio presentan errores de 11.1% y 9.2%, del mismo modo los porcentajes de recuperación muestran valores entre 90 a 110% en todos los elementos analizados en los materiales MRI 1 y MRI 2; y, en calcio y magnesio de MRI 3, solo el fósforo con 112.5% y potasio con 110.1% de recuperación superarían éstos rangos que son muy comúnmente utilizados para este tipo de trabajos.

Con los análisis de los resultados y haciendo uso de las herramientas estadísticas se puede concluir que se obtuvieron tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3, en la matriz suelos, en los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio extraídos con Olsen Modificado y analizados por espectrofotometría UV/VIS para el fósforo y espectrofotometría de absorción atómica para el potasio, calcio y magnesio. Los cuales se presentan con un promedio, una incertidumbre expandida y los límites de confianza para un 95% de probabilidad.

En próximos trabajos en la obtención de materiales de referencia internos para suelos es recomendable en la preparación de la muestra utilizar otras técnicas

más eficientes como los molinos de bolas que permitirá mejorar la homogeneidad de la muestra, lo cual permitirá disminuir la dispersión de resultados.

Los mismos materiales podrían utilizarse en la determinación de los micro elementos zinc, cobre, hierro y manganeso con el extractante Olsen Modificado, al usar estos MRI ya se evitaría la parte de la recolección y preparación de la muestra.

## **BIBLIOGRAFÍA:**

- Abreu, C. A., Abreu Ferreira, M., Andrade, J. C., & van Raij, B. (1996). *Restrictions in the use of correlation coefficients in comparing methods for the determination of the micronutrients in soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis.* (Vol. 29). New York, Estados Unidos.
- Acebal-Ibarra, A. T., & Pérez, M. d. (enero-abril de 2015). Preparación y evaluación de un material de referencia interno. *Revista Cubana de Química*, 27(1), 19-31.
- Arzola, N., Marín, R., Cervera, G., Arcia, J., Vinas, Y., Zuaznabar, R., . . . Cuesta, M. (2007). *Informe del estudio detallado de suelos con fines agrícolas.* Ingenio ECUDOS. .
- BIPM/IEC/IFF/ILAC/ISO/IUPAP/OIML. (2009). *Vocabulario Internacional de Metrología, Conceptos Fundamentales y Generales y Términos Asociados (VIM).* (3era ed.). Francia: JCGM 2012.
- Calvache, M. (2017). *LOS SUELOS DEL ECUADOR.* (Academia, Editor) Obtenido de [http://www.academia.edu/9324382/LOS\\_SUELOS\\_DEL\\_ECUADOR](http://www.academia.edu/9324382/LOS_SUELOS_DEL_ECUADOR)
- Carrera, G., & Aucatoma, B. (2010). *Informe tercera intercomparación de análisis de suelos y foliares del Ecuador.* Décimo segundo Congreso de la Ciencia de suelos Ecuador, Santo Domingo Tsachilas, Ecuador.
- Castillo, R. (2010). *Informe Anual CINCAE 2010.* CENTRO DE INVESTIGACIÓN DEL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR, El Triunfo.
- Castillo, R. (2014). *Informe Anual CINCAE 2014.* Ecuador.
- Cástor Guisande González, A. B. (2006). *Tratamiento de Datos.* Díaz de Santos.
- Conexionismo. (febrero de 2012). *Análisis de homogeneidad de varianzas.* Obtenido de [http://www.conexionismo.com/leer\\_articulo.php?ref=analisis\\_de\\_homogeneidad\\_de\\_varianzas-66gqi404](http://www.conexionismo.com/leer_articulo.php?ref=analisis_de_homogeneidad_de_varianzas-66gqi404)
- Grupo de Quimiometría y Cualimetría. (2016). *MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS.* (U. R. Virgili, Editor, & Pl. Imperial Tàrraco, 1) Obtenido de Jordi Riu: <http://www.quimica.urv.net/quimio/general/CRMs.pdf>
- Historic, archived document. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate.* Obtenido de <https://archive.org/stream/estimationofavai939olse#page/n1/mode/2upa>
- INPOFOS. (1997). *Manual Internacional de Fertilidad de Suelos.* Norcross, Georgia, USA: Potash & Phosphate Institute.
- ISO Guide 30 . (1992). *“Terms and definitions used in connection with referent materials”.* Ginebra.
- ISO/IEC 17043. (2010). *Evaluación de la conformidad-Requisitos generales para los ensayos de aptitud* (Primera edición ed.). Suiza: NC/ISO/IEC 17043:2011 (traducción oficial) .
- ISO/IEC17025:2005. (2005). *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y/o calibración.* Suiza: Segunda Edición.
- IUPAC, International Union of Pure & Applied Chemistry. (1995). *Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection and Quantification Capabilities.* Gaithersburg, Montgomery, Maryland, USA.

- IUPAC, International Union Of Pure & Applied Chemistry. (1997). Compendium of analytical nomenclature, definitive rules. En J. Inczedy, T. Lengyel, & A. M. Ure. Santa Fe, USA.
- James N. Miller, J. C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* (Cuarta ed.). Madrid., España: Pearson Educación S.A.
- Jaramillo, R. (2017). *AGROCALIDAD*. Recuperado el 2017, de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2015/09/relase-28-06-2017.pdf>
- Jiménez Díaz, R. M., & Lamo de Espinoza, J. (2009). *Agricultura Sostenible*. (Agrofuturo, Ed.) Ithaca, Nueva York, USA.
- Kass, D. C. (1996). *Fertilidad de Suelos*. (J. Nuñez, Ed.) San José, Costa Rica: EUNED.
- Lichtenberg, P. (2006). *Preparación de un material de referencia certificado para la determinación de mercurio en músculo de pez alfonsino (Beryx splendens L. 1834)*. Obtenido de REPOSITORIO ACADEMICO DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105586>
- Marcial, J. (3 de abril de 2015). *Cómo funciona: La Luz en la Ciencia*. Obtenido de Mh Joah: [https://www.google.com.ec/search?q=regiones+en+el+espectro+electromagnetic+o&sa=X&biw=1600&bih=770&tbm=isch&tbo=u&source=univ&ved=0ahUKEwuiuoae8hozSAhUJZCYKHT4kCQQQsAQINQ#imgrc=PoBWbz\\_EO11tdM](https://www.google.com.ec/search?q=regiones+en+el+espectro+electromagnetic+o&sa=X&biw=1600&bih=770&tbm=isch&tbo=u&source=univ&ved=0ahUKEwuiuoae8hozSAhUJZCYKHT4kCQQQsAQINQ#imgrc=PoBWbz_EO11tdM):
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Madrid: Pearson Educación.
- Molina Ceballos, J. A. (2012). *Métodos de laboratorio para la extracción de fósforo disponible en el suelo*. Recuperado el 2017, de <http://www.monografias.com/trabajos91/metodos-laboratorio-extraccion-fosforo-disponible-suelo/metodos-laboratorio-extraccion-fosforo-disponible-suelo.shtml#metodoalsa#ixzz4WS6kempm>
- Mora, M. (2012). *Química Agrícola*. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Navarro Blaya, S., Bautista Parejo, C., & Navarro García, G. (2000). *Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. México: Mundi-Prensa.
- Perkin-Elmer Corporation. (1996). *Atomic Absorption Spectroscopy Analytical Methods*. Estados Unidos.
- Real Academia de Ingeniería. (2012). *Diccionario*. Obtenido de <http://diccionario.raing.es/es/lema/extractante>
- Red de laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador. (2012). *Sexto ejercicio de Intercomparación organizado por la red de laboratorios de análisis de suelos del Ecuador (RELASE)*. Documento sin publicar., Marcelino Maridueña.
- Ruiz, F. S. (2000). *El Cultivo de la Caña de Azúcar* (Primera ed.). San José, Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.
- Salazar, M. E., & Sánchez, M. Á. (2010). *Carta Informativa: Guía para el muestreo de suelos y foliares en caña de azúcar*. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador, El Triunfo, Ecuador.
- Simoni, R. D., Hill, R. L., Vaughan, M., & Tabor, H. (2003). *A Classic Instrument: The Beckman DU Spectrophotometer and Its Inventor, Arnold O. Beckman*, on line. (T. J. Chemistry, Editor) Recuperado el 20 de enero de 2016, de [www.jbc.org/content/278/49/e1](http://www.jbc.org/content/278/49/e1)

- Skoog, D. A., & West, D. M. (1978). *Química Instrumental de Skoog y West* (Segunda ed.). Mc Graw Hill.
- Skoog, D. A., Holler, J. F., & Crouch, S. R. (2009). *Principios de Análisis Instrumental*. México: S. A. Ediciones Paraninfo.
- Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental* (Sexta ed.). México D.F., México: CENGAGE Learning.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1981). *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research* (2° ed.). United States of America: W. H. Freeman and Company.
- Spaans, E., González, F. D., Hernández, C. A., & Quezada, R. S. (2007). *Informe del Levantamiento de suelos del Ingenio San Carlos*. Marcelino Maridueña, Ecuador.
- Thomas Murphy, A. T. (noviembre/diciembre de 2008). *Manejo de valores atípicos*. Obtenido de ASTM International standards worldwide:  
[https://www.astm.org/SNEWS/SPANISH/SPND08/datapoints\\_spnd08.html](https://www.astm.org/SNEWS/SPANISH/SPND08/datapoints_spnd08.html)
- Travieso, M. d., C., A. V., S., V. F., & B., A. B. (julio-septiembre de 2010). Elaboración y caracterización de un material de referencia interno de fosfolípidos para métodos cromatográficos de control de calidad. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(3), 41-49.
- Valarezo, C., Iñiguez, M., Valarezo, J. I., Muñoz, F., Valarezo, L., & Vera, A. (2007). *Informe del Estudio detallado de suelos con fines agrícolas*. Compañía Azucarera Valdez, Milagro, Ecuador.
- van Raij, B. (1999). *Bioavailable test: Alternatives to standard soil extraction*. *Communications in Soils Science and Plant Analysis* (Vol. 29).
- van Raij, B. C. (2009). *Resina de Intercambio Iónico para determinar la disponibilidad de P en el suelo*. *Informaciones agronómicas*.
- Van Raij, B., Cantarella, H., Quaggio y, L., & Prochnow, L. (2009). *Informaciones agronómicas*. (I. Agro, Editor) Recuperado el 18 de 05 de 2015, de [http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/\\$webindex/C8C571780677C47305257627006EAF0E/\\$file/Resina+de+intercambio+i%C3%B3nico+para+determinar+la+disponibilidad.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/iaecu.nsf/$webindex/C8C571780677C47305257627006EAF0E/$file/Resina+de+intercambio+i%C3%B3nico+para+determinar+la+disponibilidad.pdf)

## **ANEXOS:**

### ***Anexo 1. Preparación de reactivos:***

#### **Solución Extractora Olsen Modificado:**

Disolver 84 g de NaHCO<sub>3</sub> y 7.44g de la sal disódica de EDTA en agua destilada, aforar a 2 litros y luego ajustar el pH a 8.5 con una solución de hidróxido de sodio 1 N o directamente con perlas de hidróxido de sodio, guardar en frasco de polietileno.

#### **Solución de lantano:**

Pesar 23.456 g de óxido lantano, dentro de la Sorbona, añadir aproximadamente 30 mL de agua destilada, agregar despacio 100 mL de ácido clorhídrico concentrado, agitar hasta que esté totalmente disuelto y aforar a 2 litros con agua desionizada.

#### **Solución A. Reactivo concentrado:**

Pesar 1 g de tartrato de potasio y antimonio en un frasco volumétrico de 1 litro, agregar alrededor de 400 mL de agua destilada, añadir despacio mientras se mezcla 165 mL de ácido sulfúrico concentrado, enfriar la solución. Disolver 7.5g de Molibdato de amonio en aproximadamente 300 mL de agua destilada, añadir la solución ácida de tartrato y aforar a 1 litro con agua desionizada.

*Nota: Esta solución es sensitiva al calor y a la luz por lo que debe ser almacenada en un recipiente ámbar y en refrigeración.*

#### **Solución B. Reactivo de color para fósforo:**

El día que se va a utilizar esta solución, diluir 150 mL de solución A con 1 g de goma de acacia o arábica y 1 g de ácido ascórbico a un litro de solución con agua desionizada.



## **Anexo 2. Preparación de estándares:**

Para los dos estándares de fósforo y de los elementos potasio, calcio y magnesio el factor de dilución a tomar es de 10 que se obtiene de las diluciones de 2.5 g de muestra con 25 mL de la solución extractante de Olsen Modificado.

### **Preparación de las soluciones estándares de Fósforo:**

La preparación de los estándares de fósforo se realiza utilizando una solución patrón de 1000 ppm con certificado de trazabilidad a NIST SRM, se prepara una solución madre de una concentración de 50 ppm de P, con la cual se realizan las diluciones indicadas en el (*Tabla 2.*) para obtener concentraciones desde 0.25 hasta 5 ppm. Los resultados se reportan como mg de fósforo por kg de suelo para lo cual el resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente o se ingresan en la curva las concentraciones multiplicadas por el factor.

### **Preparación de las soluciones estándares de Potasio, Calcio y Magnesio:**

Se prepara una solución madre de 60, 500 y 50 ppm de potasio, calcio y magnesio, para lo cual se utilizan soluciones estándares de 1000 ppm trazables a NIST SRM de los mismos elementos, añadiéndose con pipetas volumétricas 6.0, 50.0 y 5.0 mL respectivamente, se afora a 100 mL con agua desionizada. De la solución madre se toman los volúmenes indicados en el (*Tabla 3*) y se preparan 250 mL de los estándares utilizados en la preparación de la curva de calibración.

### **Anexo 3. Determinación de Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio:**

#### **Determinación de Fósforo:**

Para la determinación de fósforo, se toman 1mL de extracto, 4ml de agua desionizada, y 5mL de solución B (complejo de molibdato de amonio y ácido ascórbico). Dejando en reposo una hora sin exponer las soluciones al calor o la luz directa, se lee la absorbancia en el Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25 a una longitud de onda de 680 nm.

#### **Determinación de Potasio, Calcio y Magnesio:**

Para la determinación de potasio, calcio y magnesio se toma con pipetas volumétricas 1 mL del extracto de suelo, 9 mL de agua desionizada y 15 mL de solución de lantano al 1% en tubos de ensayo de 50 mL de capacidad, utilizando la lámpara respectiva para cada elemento, así como las especificaciones descritas en el (*Tabla 1*) se realizan las lecturas y cuantifican los elementos en el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer Aanalyst 100.

## **APÉNDICES**

APÉNDICE A: TIEMPO DE MEZCLADO DEL MRI

TABLA 16. Cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg de la muestra de suelos del orden Inceptisol (MRI 1) sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado

	tiempo (h)	Repeticiones									
		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>9</sub>	R <sub>10</sub>
P meq.100g <sup>-1</sup>	T1	14.60	13.27	13.65	13.75	13.98	13.97	13.12	13.67	14.25	11.15
	T2	13.52	12.16	11.12	12.27	12.19	12.32	12.18	12.24	12.46	12.61
	T3	13.04	13.72	13.38	12.51	11.47	12.06	12.84	12.16	12.14	13.29
	T4	12.44	12.55	11.99	11.89	11.99	12.08	12.93	12.18	12.44	14.30
K meq.100g <sup>-1</sup>	T1	0.37	0.36	0.36	0.36	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36
	T2	0.37	0.37	0.37	0.38	0.36	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36
	T3	0.36	0.38	0.36	0.35	0.35	0.35	0.33	0.35	0.35	0.35
	T4	0.37	0.39	0.37	0.38	0.37	0.38	0.39	0.38	0.38	0.37
Ca meq.100g <sup>-1</sup>	T1	17.29	17.10	16.88	17.88	16.71	17.44	17.48	16.87	17.08	17.66
	T2	16.56	17.51	17.89	16.95	17.29	16.76	17.24	17.4	17.82	17.45
	T3	17.03	17.33	17.69	16.88	16.58	17.21	17.95	17.38	16.7	16.06
	T4	16.82	17.04	16.79	17.47	16.56	17.61	17.76	17.58	17.47	17.23
Mg meq.100g <sup>-1</sup>	T1	6.46	6.52	6.49	6.51	6.65	6.50	6.56	6.59	6.45	6.47
	T2	6.48	6.66	6.31	6.25	6.61	6.30	6.40	6.37	6.37	6.35
	T3	6.55	6.59	6.76	6.58	6.71	6.67	6.77	6.73	6.69	6.66
	T4	6.58	6.49	6.47	6.43	6.48	6.47	6.46	6.47	6.48	6.47

T1: Muestra sin mezclar; T2: Muestra + 2 horas de mezclado; T3: Muestra + 4 horas de mezclado T4: Muestra + 6 horas de mezclado.

TABLA 17. Cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg de la muestra de suelos del orden Entisol (MRI 2) sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado

	tiempo (h)	Repeticiones									
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
P meq.100g <sup>-1</sup>	T1	31.77	31.36	31.45	31.48	30.74	31.35	31.21	31.28	31.23	31.21
	T2	31.33	29.52	29.28	30.31	29.93	30.70	30.14	30.43	30.37	30.47
	T3	32.68	33.15	33.11	32.95	32.97	32.84	32.98	32.95	32.90	32.74
	T4	30.97	30.78	30.76	31.37	31.38	30.76	30.94	30.92	30.96	30.95
K meq.100g <sup>-1</sup>	T1	0.20	0.20	0.21	0.21	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.20
	T2	0.21	0.19	0.18	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
	T3	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.20	0.21	0.21	0.21	0.21
	T4	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.18	0.18
Ca meq.100g <sup>-1</sup>	T1	16.14	16.31	16.48	17.00	16.48	16.46	16.50	16.56	16.48	16.50
	T2	16.49	16.36	16.57	16.42	16.15	16.37	16.54	16.47	16.53	16.39
	T3	16.54	16.50	16.61	16.82	16.45	16.68	16.64	16.48	16.53	16.62
	T4	15.30	15.43	15.44	15.49	15.67	15.50	15.49	15.44	15.42	15.49
Mg meq.100g <sup>-1</sup>	T1	4.25	4.36	4.23	4.22	4.33	4.19	4.31	4.30	4.32	4.30
	T2	4.30	4.33	4.35	4.39	4.31	4.35	4.30	4.26	4.35	4.32
	T3	4.29	4.32	4.37	4.32	4.30	4.32	4.32	4.30	4.26	4.30
	T4	4.08	4.03	4.07	4.04	4.10	4.13	4.29	4.23	4.25	4.26

T1: Muestra sin mezclar; T2: Muestra + 2 horas de mezclado; T3: Muestra + 4 horas de mezclado T4: Muestra + 6 horas de mezclado.

TABLA 18. Cuantificación de los elementos P, K, Ca y Mg de la muestra de suelos del orden Vertisol (MRI 3) sin mezclar y a las 2, 4 y 6 horas de mezclado

	tiempo (h)	Repeticiones									
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
P meq.100g <sup>-1</sup>	T1	5.39	5.87	5.16	5.61	6.37	5.40	5.00	5.08	5.18	4.80
	T2	5.31	5.04	5.30	5.62	5.50	4.88	5.24	5.05	4.74	5.29
	T3	4.77	5.09	5.70	5.72	5.37	5.37	5.31	5.21	4.78	4.65
	T4	5.13	5.25	5.31	5.20	5.18	5.11	5.09	5.09	5.02	5.11
K meq.100g <sup>-1</sup>	T1	0.29	0.30	0.28	0.28	0.28	0.29	0.28	0.30	0.29	0.29
	T2	0.29	0.29	0.30	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.29	0.29
	T3	0.28	0.28	0.29	0.28	0.29	0.29	0.29	0.29	0.28	0.29
	T4	0.30	0.29	0.30	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Ca meq.100g <sup>-1</sup>	T1	10.68	10.70	10.71	10.60	10.67	10.71	10.69	10.69	10.67	10.70
	T2	10.99	10.83	10.67	10.72	11.11	10.82	10.79	11.06	10.83	10.82
	T3	10.67	10.54	10.53	10.68	10.63	10.67	10.71	10.69	10.68	10.66
	T4	10.73	10.70	10.79	10.69	10.65	10.68	10.72	10.73	10.72	10.70
Mg meq.100g <sup>-1</sup>	T1	3.67	3.58	3.57	3.47	3.57	3.56	3.53	3.58	3.54	3.52
	T2	3.56	3.53	3.57	3.54	3.56	3.51	3.53	3.57	3.52	3.56
	T3	3.55	3.57	3.55	3.52	3.56	3.55	3.56	3.55	3.55	3.53
	T4	3.45	3.47	3.48	3.47	3.51	3.46	3.42	3.46	3.43	3.50

T1: Muestra sin mezclar; T2: Muestra + 2 horas de mezclado; T3: Muestra + 4 horas de mezclado T4: Muestra + 6 horas de mezclado.

**APÉNDICE B: HOMOGENEIDAD DEL MRI**

**TABLA 19. Análisis de fósforo de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1**

<b>MRI 1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
178	12.86	12.30	12.01	11.58	12.02	11.98
184	12.26	12.59	11.62	13.14	11.08	10.98
165	12.58	12.22	12.35	12.58	11.12	11.17
192	12.01	12.65	12.24	12.24	11.28	11.21
190	11.92	12.45	12.28	12.22	11.19	11.59
125	12.28	12.24	12.54	12.13	11.63	12.16
119	12.36	12.63	12.32	11.92	11.33	11.65
140	12.69	11.92	11.90	12.64	11.69	11.42
143	12.76	11.92	11.72	12.48	10.92	10.84
139	12.43	12.21	11.83	11.74	11.43	11.82
196	11.97	12.63	11.26	12.09	11.65	11.89
189	13.28	12.37	13.98	11.68	12.07	12.24
121	12.70	11.96	13.66	12.15	11.87	12.00
123	12.59	12.79	12.29	11.89	11.63	12.24

**TABLA 20. Análisis de fósforo de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2**

<b>MRI 2</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
254	31.86	28.89	30.59	30.01	32.40	33.95
297	29.30	30.32	30.54	30.84	33.94	33.39
213	29.44	31.24	30.32	30.51	31.83	32.79
229	29.24	30.00	31.23	31.51	32.45	32.96
227	31.18	31.18	31.71	30.93	31.36	32.37
246	32.22	31.49	32.18	30.62	32.02	32.54
283	32.07	33.25	27.24	27.92	31.75	31.03
250	31.11	31.11	28.37	30.38	32.01	31.00
286	31.03	30.60	30.10	27.26	30.64	32.13
267	30.40	31.25	28.25	29.48	31.12	32.73
203	30.82	30.51	31.01	31.94	33.44	31.93
268	27.86	31.21	32.37	28.02	30.56	32.64
256	31.31	31.01	29.22	29.19	31.92	32.18
214	30.48	29.72	30.07	31.04	31.42	30.93

**TABLA 21. Análisis de fósforo de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3**

<b>MRI 3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
315	5.80	5.42	5.87	5.66	5.99	5.68
370	5.79	5.80	5.59	5.46	5.79	6.19
360	5.83	5.50	5.62	5.45	5.80	5.78
371	5.88	5.34	5.56	5.01	5.59	6.05
346	5.59	5.59	5.41	5.75	5.45	5.66
354	5.75	5.34	5.36	5.23	5.69	5.46
388	5.14	5.45	5.50	5.45	5.67	5.37
369	5.30	5.47	5.20	5.49	6.41	6.05
303	5.50	5.53	5.25	5.04	5.15	5.94
339	5.42	5.43	5.34	5.16	5.43	5.62
302	5.56	5.32	5.38	5.74	5.80	5.96
326	5.78	5.55	5.65	5.36	5.61	6.30
361	5.49	5.36	5.46	5.66	6.22	5.69
396	5.38	5.55	5.62	5.40	5.95	5.96

**TABLA 22. Análisis de potasio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1**

<b>MRI 1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
178	0.39	0.40	0.38	0.38	0.38	0.39
184	0.38	0.39	0.38	0.38	0.38	0.39
165	0.39	0.41	0.38	0.38	0.38	0.39
192	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.37
190	0.39	0.38	0.37	0.39	0.37	0.38
125	0.39	0.37	0.37	0.38	0.37	0.37
119	0.39	0.38	0.38	0.37	0.37	0.39
140	0.37	0.38	0.37	0.38	0.37	0.37
143	0.38	0.37	0.37	0.37	0.39	0.37
139	0.37	0.38	0.40	0.38	0.38	0.38
196	0.39	0.37	0.38	0.38	0.37	0.38
189	0.37	0.38	0.41	0.37	0.38	0.38
121	0.39	0.38	0.38	0.37	0.37	0.38
123	0.38	0.38	0.39	0.37	0.37	0.38



**TABLA 23. Análisis de potasio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2**

<b>MRI 2</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
254	0.17	0.18	0.18	0.17	0.20	0.20
297	0.17	0.19	0.18	0.16	0.18	0.19
213	0.16	0.20	0.20	0.17	0.20	0.18
229	0.18	0.20	0.18	0.16	0.19	0.20
227	0.16	0.19	0.18	0.17	0.19	0.20
246	0.17	0.18	0.19	0.17	0.19	0.19
283	0.16	0.19	0.19	0.18	0.18	0.19
250	0.16	0.20	0.18	0.18	0.19	0.20
286	0.16	0.19	0.19	0.20	0.19	0.19
267	0.17	0.20	0.19	0.19	0.19	0.19
203	0.16	0.19	0.18	0.20	0.18	0.19
268	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19
256	0.19	0.19	0.18	0.19	0.18	0.19
214	0.17	0.20	0.19	0.18	0.18	0.19

**TABLA 24. Análisis de potasio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3**

<b>MRI 3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
315	0.27	0.29	0.28	0.26	0.26	0.26
370	0.27	0.30	0.26	0.26	0.26	0.27
360	0.25	0.28	0.26	0.26	0.27	0.26
371	0.28	0.29	0.27	0.27	0.26	0.28
346	0.26	0.29	0.26	0.29	0.26	0.28
354	0.25	0.28	0.26	0.26	0.29	0.26
388	0.25	0.31	0.30	0.26	0.28	0.27
369	0.27	0.29	0.27	0.27	0.29	0.28
303	0.28	0.30	0.29	0.27	0.27	0.27
339	0.27	0.28	0.27	0.26	0.29	0.27
302	0.28	0.30	0.29	0.27	0.27	0.28
326	0.26	0.29	0.28	0.26	0.28	0.29
361	0.27	0.31	0.26	0.28	0.30	0.28
396	0.26	0.31	0.27	0.26	0.29	0.31

**TABLA 25. Análisis de calcio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1.**

<b>MRI 1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
178	16.85	16.93	18.15	17.13	17.36	17.56
184	18.21	16.63	18.52	17.21	16.87	17.27
165	16.16	17.87	18.80	17.70	17.80	17.64
192	18.36	17.53	19.56	17.80	17.86	17.10
190	18.64	17.52	18.03	17.25	17.55	16.52
125	18.42	18.44	18.51	19.00	18.20	17.71
119	18.52	17.29	17.18	17.78	17.95	17.20
140	18.89	17.45	17.24	18.58	17.43	17.99
143	18.43	18.74	18.51	18.06	17.93	17.30
139	18.23	18.58	18.71	17.88	17.26	16.47
196	18.58	18.06	17.81	18.77	18.12	16.64
189	17.41	18.94	19.09	18.50	18.48	17.77
121	18.10	18.73	19.69	17.77	17.94	18.42
123	18.44	17.17	18.14	17.76	17.76	16.75

**TABLA 26. Análisis de calcio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2**

<b>MRI 2</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
254	15.62	15.92	14.98	15.34	14.98	15.34
297	16.10	16.51	15.68	15.02	15.68	15.02
213	16.15	16.51	15.05	15.19	15.05	15.19
229	16.54	16.45	14.94	15.57	14.94	15.57
227	15.55	15.70	15.32	15.40	15.32	15.40
246	15.38	15.34	14.61	14.46	14.61	14.46
283	16.27	16.21	14.61	14.68	14.61	14.68
250	16.34	16.62	15.54	14.54	15.54	14.54
286	15.44	14.54	14.63	14.98	14.63	14.98
267	15.54	14.87	14.43	14.54	14.43	14.54
203	14.46	14.80	14.25	14.50	14.25	14.50
268	15.41	15.76	14.85	15.12	14.85	15.12
256	15.56	15.23	14.90	15.10	14.90	15.10
214	14.78	14.38	15.56	14.94	15.56	14.94

**TABLA 27. Análisis de calcio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3**

<b>MRI 3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
<b>315</b>	10.85	11.20	11.37	10.32	10.18	10.17
<b>370</b>	10.51	10.88	11.05	10.01	10.08	10.06
<b>360</b>	10.29	10.41	10.69	10.24	10.27	10.00
<b>371</b>	10.23	10.94	11.03	10.57	10.66	10.88
<b>346</b>	10.38	11.23	11.23	10.39	10.13	10.16
<b>354</b>	10.88	11.19	11.19	10.54	10.49	10.14
<b>388</b>	10.22	10.62	10.12	10.19	10.75	10.35
<b>369</b>	10.90	10.80	10.82	10.54	10.89	11.17
<b>303</b>	10.52	10.59	10.62	10.65	9.81	10.42
<b>339</b>	10.56	10.80	11.02	10.29	10.66	10.66
<b>302</b>	10.68	10.66	11.03	10.34	10.75	10.41
<b>326</b>	10.00	10.24	10.23	11.02	10.75	11.03
<b>361</b>	10.23	10.48	10.41	10.42	10.25	11.08
<b>396</b>	10.86	10.42	10.60	10.68	10.65	11.07

**TABLA 28. Análisis de magnesio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Inceptisol MRI 1**

<b>MRI 1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
<b>178</b>	6.04	5.83	6.24	6.60	6.09	6.30
<b>184</b>	6.32	6.10	6.23	6.16	5.81	6.44
<b>165</b>	5.87	6.06	6.12	6.51	6.02	5.74
<b>192</b>	6.14	5.98	6.37	6.36	5.99	6.46
<b>190</b>	6.28	5.93	6.40	5.81	5.87	6.42
<b>125</b>	6.01	5.93	6.41	6.29	5.97	6.51
<b>119</b>	6.52	5.86	6.15	6.02	6.08	6.50
<b>140</b>	6.57	6.14	6.49	6.71	5.91	6.51
<b>143</b>	6.65	5.98	6.50	6.30	5.80	6.52
<b>139</b>	6.15	5.80	6.34	6.55	5.83	6.39
<b>196</b>	6.23	6.11	6.47	6.48	5.99	6.46
<b>189</b>	6.72	6.11	6.53	6.66	6.13	6.60
<b>121</b>	6.82	6.09	6.49	6.75	6.10	6.42
<b>123</b>	6.82	6.06	6.40	6.81	6.08	6.24

**TABLA 29. Análisis de magnesio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Entisol MRI 2.**

<b>MRI 2</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
<b>254</b>	4.38	4.19	4.38	4.26	4.39	4.36
<b>297</b>	4.22	4.10	4.11	4.22	4.32	4.32
<b>213</b>	4.14	4.32	4.16	4.46	4.28	4.13
<b>229</b>	4.23	4.33	4.31	4.40	4.22	4.25
<b>227</b>	4.22	4.39	4.41	4.37	4.29	4.04
<b>246</b>	4.57	4.33	4.38	4.34	4.12	4.05
<b>283</b>	4.50	4.36	4.56	4.13	4.17	4.07
<b>250</b>	4.31	4.03	4.49	4.07	4.22	4.16
<b>286</b>	4.51	4.02	4.59	3.77	4.20	4.18
<b>267</b>	3.95	4.10	4.93	3.94	4.17	4.18
<b>203</b>	4.32	4.01	4.51	4.18	3.97	4.01
<b>268</b>	4.52	4.27	4.52	4.22	4.06	4.08
<b>256</b>	4.55	4.22	4.10	4.11	4.09	4.15
<b>214</b>	4.56	4.19	4.37	4.07	4.07	4.15

**TABLA 30. Análisis de magnesio de 14 sub muestras con seis repeticiones en suelo del orden Vertisol MRI 3.**

<b>MRI 3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>
<b>315</b>	3.81	3.53	3.80	3.51	3.49	3.38
<b>370</b>	3.66	3.48	3.62	3.58	3.38	3.26
<b>360</b>	3.62	3.41	3.27	3.51	3.63	3.21
<b>371</b>	3.60	3.53	3.54	3.59	3.86	3.41
<b>346</b>	3.56	3.63	3.44	3.74	3.86	3.27
<b>354</b>	3.65	3.76	3.61	3.58	3.72	3.31
<b>388</b>	3.47	3.63	3.68	3.47	3.70	3.39
<b>369</b>	3.67	3.63	3.54	3.67	3.71	3.23
<b>303</b>	3.63	3.62	3.52	3.64	3.79	3.26
<b>339</b>	3.56	3.70	3.56	3.82	3.84	3.42
<b>302</b>	3.69	3.60	3.55	3.83	3.55	3.44
<b>326</b>	3.53	3.68	3.43	3.62	3.72	3.40
<b>361</b>	3.65	3.70	3.66	3.67	3.49	3.21
<b>396</b>	3.88	3.73	3.45	3.84	3.70	3.37

**Tratamiento estadístico: Prueba C de Cochran**

**TABLA 31. Prueba C de Cochran en la determinación de fósforo para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1)**

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica	Varianza	C
178	11.58	12.86	12.13	0.43	0.18	0.04
184	10.98	13.14	11.95	0.86	0.75	0.15
165	11.12	12.58	12.00	0.68	0.46	0.09
192	11.21	12.65	11.94	0.58	0.33	0.07
190	11.19	12.45	11.94	0.48	0.23	0.05
125	11.63	12.54	12.16	0.30	0.09	0.02
119	11.33	12.63	12.04	0.49	0.24	0.05
140	11.42	12.69	12.04	0.51	0.26	0.05
143	10.84	12.76	11.77	0.79	0.62	0.13
139	11.43	12.43	11.91	0.36	0.13	0.03
196	11.26	12.63	11.92	0.46	0.21	0.04
189	11.68	13.98	12.60	0.86	0.74	0.15
121	11.87	13.66	12.39	0.69	0.47	0.10
123	11.63	12.79	12.24	0.43	0.18	0.04

C (Valor observado) 0.152

C (Valor crítico) 0.232

**TABLA 32. Prueba C de Cochran en la determinación de fósforo para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2)**

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica	Varianza	C
254	28.89	33.95	31.28	1.82	3.31	0.11
297	29.30	33.94	31.39	1.85	3.41	0.11
213	29.44	32.79	31.02	1.19	1.42	0.05
229	29.24	32.96	31.23	1.42	2.01	0.06
227	30.93	32.37	31.45	0.52	0.27	0.01
246	30.62	32.54	31.84	0.69	0.48	0.02
283	27.24	33.25	30.54	2.41	5.82	0.19
250	28.37	32.01	30.66	1.24	1.53	0.05
286	27.26	32.13	30.29	1.64	2.67	0.09
267	28.25	32.73	30.54	1.55	2.40	0.08
203	30.51	33.44	31.61	1.07	1.15	0.04
268	27.86	32.64	30.44	2.08	4.33	0.14
256	29.19	32.18	30.80	1.31	1.71	0.06
214	29.72	31.42	30.61	0.64	0.41	0.01

C (Valor observado) 0.188

C (Valor crítico) 0.232

**TABLA 33. Prueba C de Cochran en la determinación de fósforo para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3)**

<b>Variable</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. típica</b>	<b>Varianza</b>	<b>C</b>
315	5.42	5.99	5.74	0.20	0.04	0.04
370	5.46	6.19	5.77	0.25	0.06	0.06
360	5.45	5.83	5.66	0.16	0.03	0.03
371	5.01	6.05	5.57	0.37	0.14	0.13
346	5.41	5.75	5.57	0.13	0.02	0.02
354	5.23	5.75	5.47	0.21	0.04	0.04
388	5.14	5.67	5.43	0.17	0.03	0.03
369	5.20	6.41	5.65	0.47	0.23	0.22
303	5.04	5.94	5.40	0.33	0.11	0.10
339	5.16	5.62	5.40	0.15	0.02	0.02
302	5.32	5.96	5.63	0.25	0.06	0.06
326	5.36	6.30	5.71	0.32	0.10	0.10
361	5.36	6.22	5.65	0.31	0.09	0.09
396	5.38	5.96	5.64	0.26	0.07	0.06

C (Valor observado)            0.217

C (Valor crítico)                0.232

**TABLA 34. Prueba C de Cochran en la determinación de potasio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1)**

<b>Variable</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. típica</b>	<b>Varianza</b>	<b>C</b>
178	0.38	0.40	0.39	0.01	0.0001	0.06
184	0.38	0.39	0.38	0.01	0.0000	0.03
165	0.38	0.41	0.39	0.01	0.0001	0.13
192	0.37	0.38	0.38	0.00	0.0000	0.02
190	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.08
125	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.07
119	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.08
140	0.37	0.38	0.37	0.01	0.0000	0.03
143	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.07
139	0.37	0.40	0.38	0.01	0.0001	0.09
196	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.05
189	0.37	0.41	0.38	0.01	0.0002	0.21
121	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.05
123	0.37	0.39	0.38	0.01	0.0001	0.05

C (Valor observado)            0.205

C (Valor crítico)                0.232

**TABLA 35. Prueba C de Cochran en la determinación de potasio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2)**

<b>Variable</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. típica</b>	<b>Varianza</b>	<b>C</b>
254	0.17	0.20	0.18	0.01	0.0002	0.09
297	0.16	0.19	0.18	0.01	0.0001	0.06
213	0.16	0.20	0.19	0.02	0.0003	0.14
229	0.16	0.20	0.19	0.02	0.0002	0.11
227	0.16	0.20	0.18	0.01	0.0002	0.10
246	0.17	0.19	0.18	0.01	0.0001	0.04
283	0.16	0.19	0.18	0.01	0.0001	0.06
250	0.16	0.20	0.19	0.02	0.0002	0.11
286	0.16	0.20	0.19	0.01	0.0002	0.09
267	0.17	0.20	0.19	0.01	0.0001	0.04
203	0.16	0.20	0.18	0.01	0.0002	0.09
268	0.18	0.19	0.18	0.00	0.0000	0.01
256	0.18	0.19	0.19	0.01	0.0000	0.01
214	0.17	0.20	0.19	0.01	0.0001	0.05

C (Valor observado) 0.143

C (Valor crítico) 0.232

**TABLA 36. Prueba C de Cochran en la determinación de potasio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3)**

<b>Variable</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. típica</b>	<b>Varianza</b>	<b>C</b>
315	0.26	0.29	0.27	0.01	0.0002	0.05
370	0.26	0.30	0.27	0.02	0.0002	0.08
360	0.25	0.28	0.26	0.01	0.0001	0.03
371	0.26	0.29	0.28	0.01	0.0001	0.03
346	0.26	0.29	0.27	0.02	0.0002	0.07
354	0.25	0.29	0.27	0.02	0.0002	0.07
388	0.25	0.31	0.28	0.02	0.0005	0.17
369	0.27	0.29	0.28	0.01	0.0001	0.03
303	0.27	0.30	0.28	0.01	0.0002	0.05
339	0.26	0.29	0.27	0.01	0.0001	0.03
302	0.27	0.30	0.28	0.01	0.0001	0.04
326	0.26	0.29	0.28	0.01	0.0002	0.06
361	0.26	0.31	0.28	0.02	0.0003	0.11
396	0.26	0.31	0.28	0.02	0.0005	0.17

C (Valor observado) 0.172

C (Valor crítico) 0.232

**TABLA 37. Prueba C de Cochran en la determinación de calcio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1)**

<b>Variable</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. típica</b>	<b>Varianza</b>	<b>C</b>
178	16.85	18.15	17.33	0.48	0.23	0.04
184	16.63	18.52	17.45	0.75	0.56	0.09
165	16.16	18.80	17.66	0.85	0.72	0.11
192	17.10	19.56	18.04	0.85	0.73	0.11
190	16.52	18.64	17.59	0.72	0.51	0.08
125	17.71	19.00	18.38	0.42	0.18	0.03
119	17.18	18.52	17.65	0.53	0.28	0.04
140	17.24	18.89	17.93	0.68	0.46	0.07
143	17.30	18.74	18.16	0.52	0.27	0.04
139	16.47	18.71	17.86	0.86	0.73	0.11
196	16.64	18.77	18.00	0.75	0.57	0.09
189	17.41	19.09	18.37	0.66	0.43	0.07
121	17.77	19.69	18.44	0.70	0.49	0.08
123	16.75	18.44	17.67	0.62	0.39	0.06

C (Valor observado) 0.035

C (Valor crítico) 0.232

**TABLA 38. Prueba C de Cochran en la determinación de calcio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2)**

<b>Variable</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. típica</b>	<b>Varianza</b>	<b>C</b>
254	14.98	15.92	15.36	0.37	0.13	0.04
297	15.02	16.51	15.67	0.59	0.35	0.09
213	15.05	16.51	15.52	0.64	0.41	0.11
229	14.94	16.54	15.67	0.70	0.49	0.13
227	15.32	15.70	15.45	0.15	0.02	0.01
246	14.46	15.38	14.81	0.43	0.19	0.05
283	14.61	16.27	15.18	0.82	0.68	0.18
250	14.54	16.62	15.52	0.87	0.76	0.20
286	14.54	15.44	14.87	0.34	0.11	0.03
267	14.43	15.54	14.73	0.43	0.19	0.05
203	14.25	14.80	14.46	0.20	0.04	0.01
268	14.85	15.76	15.19	0.35	0.12	0.03
256	14.90	15.56	15.13	0.25	0.06	0.02
214	14.38	15.56	15.03	0.46	0.21	0.06

C (Valor observado) 0.202

C (Valor crítico) 0.232



**TABLA 39. Prueba C de Cochran en la determinación de calcio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3)**

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica	Varianza	C
315	10.17	11.37	10.68	0.53	0.28	0.16
370	10.01	11.05	10.43	0.45	0.21	0.12
360	10.00	10.69	10.32	0.23	0.05	0.03
371	10.23	11.03	10.72	0.30	0.09	0.05
346	10.13	11.23	10.59	0.51	0.26	0.15
354	10.14	11.19	10.74	0.42	0.18	0.10
388	10.12	10.75	10.38	0.25	0.06	0.04
369	10.54	11.17	10.85	0.20	0.04	0.02
303	9.81	10.65	10.44	0.32	0.10	0.06
339	10.29	11.02	10.67	0.24	0.06	0.03
302	10.34	11.03	10.65	0.25	0.06	0.04
326	10.00	11.03	10.55	0.45	0.20	0.11
361	10.23	11.08	10.48	0.31	0.10	0.06
396	10.42	11.07	10.71	0.22	0.05	0.03
C (Valor observado)	0.163					
C (Valor crítico)	0.232					

**TABLA 40. Prueba C de Cochran en la determinación de magnesio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Inceptisol (MRI 1)**

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica	Varianza	C
178	5.83	6.60	6.18	0.26	0.07	0.06
184	5.81	6.44	6.18	0.22	0.05	0.04
165	5.74	6.51	6.05	0.26	0.07	0.06
192	5.98	6.46	6.22	0.21	0.04	0.04
190	5.81	6.42	6.12	0.28	0.08	0.07
125	5.93	6.51	6.19	0.25	0.06	0.06
119	5.86	6.52	6.19	0.27	0.07	0.07
140	5.91	6.71	6.39	0.30	0.09	0.08
143	5.80	6.65	6.29	0.34	0.11	0.11
139	5.80	6.55	6.18	0.31	0.09	0.09
196	5.99	6.48	6.29	0.21	0.04	0.04
189	6.11	6.72	6.46	0.27	0.07	0.07
121	6.09	6.82	6.45	0.31	0.10	0.09
123	6.06	6.82	6.40	0.34	0.12	0.11
C (Valor observado)	0.065					
C (Valor crítico)	0.232					

**TABLA 41. Prueba C de Cochran en la determinación de magnesio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Entisol (MRI 2)**

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica	Varianza	C
254	4.19	4.39	4.33	0.08	0.01	0.01
297	4.10	4.32	4.22	0.10	0.01	0.02
213	4.13	4.46	4.25	0.13	0.02	0.03
229	4.22	4.40	4.29	0.07	0.00	0.01
227	4.04	4.41	4.29	0.14	0.02	0.04
246	4.05	4.57	4.30	0.19	0.04	0.06
283	4.07	4.56	4.30	0.20	0.04	0.08
250	4.03	4.49	4.21	0.17	0.03	0.05
286	3.77	4.59	4.21	0.30	0.09	0.17
267	3.94	4.93	4.21	0.37	0.13	0.25
203	3.97	4.51	4.17	0.21	0.05	0.08
268	4.06	4.52	4.28	0.20	0.04	0.08
256	4.09	4.55	4.20	0.18	0.03	0.06
214	4.07	4.56	4.24	0.19	0.04	0.07

C (Valor observado) 0.246

C (Valor crítico) 0.232

**TABLA 42. Prueba C de Cochran en la determinación de magnesio para 14 sub muestras con 6 observaciones en suelos del orden Vertisol (MRI 3)**

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica	Varianza	C
315	3.38	3.81	3.59	0.18	0.03	0.08
370	3.26	3.66	3.50	0.15	0.02	0.06
360	3.21	3.63	3.44	0.18	0.03	0.08
371	3.41	3.86	3.59	0.15	0.02	0.06
346	3.27	3.86	3.58	0.21	0.04	0.11
354	3.31	3.76	3.61	0.16	0.03	0.06
388	3.39	3.70	3.56	0.13	0.02	0.04
369	3.23	3.71	3.58	0.18	0.03	0.08
303	3.26	3.79	3.58	0.18	0.03	0.08
339	3.42	3.84	3.65	0.17	0.03	0.07
302	3.44	3.83	3.61	0.13	0.02	0.05
326	3.40	3.72	3.56	0.13	0.02	0.04
361	3.21	3.70	3.56	0.19	0.04	0.09
396	3.37	3.88	3.66	0.21	0.04	0.11

C (Valor observado) 0.078

C (Valor crítico) 0.232

*APÉNDICE C: Estabilidad del MRI*

**TABLA 43. Resultados de la determinación de estabilidad del MRI 1 a los seis meses en la determinación de los elementos P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras**

Repeticiones	ppm	meq.100g <sup>-1</sup>		
	P	K	Ca	Mg
178	12.12	0.377	17.94	6.32
184	13.69	0.379	17.98	6.39
165	11.99	0.381	17.78	6.28
192	12.19	0.372	17.38	6.17
190	11.83	0.380	17.46	6.29
125	12.20	0.373	17.59	6.19
119	11.91	0.380	18.22	6.33
140	12.00	0.375	17.77	6.34
143	11.83	0.379	17.99	6.31
139	12.45	0.369	17.64	6.23
196	12.13	0.380	17.21	6.39
189	12.50	0.369	16.62	6.36
121	12.07	0.387	17.82	6.28
123	12.26	0.370	18.40	6.41

**TABLA 44. Resultados de la determinación de estabilidad del MRI 2 a los seis meses en la determinación de los elementos P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras**

Repeticiones	ppm	meq.100g <sup>-1</sup>		
	P	K	Ca	Mg
254	31.45	0.174	15.10	4.30
297	30.20	0.184	14.95	4.37
213	30.52	0.186	15.07	4.26
229	32.34	0.197	15.18	4.15
227	32.53	0.193	15.17	4.27
246	30.45	0.199	15.34	4.17
283	30.93	0.172	15.52	4.31
250	32.52	0.198	15.49	4.32
286	30.74	0.230	15.37	4.29
267	31.20	0.199	15.20	4.21
203	30.69	0.188	15.64	4.37
268	30.70	0.172	15.51	4.34
256	31.73	0.173	15.34	4.26
214	31.41	0.198	15.97	4.39

**TABLA 45. Resultados de la determinación de estabilidad del MRI 3 a los seis meses en la determinación de los elementos P, K, Ca y Mg de 14 sub muestras**

Repeticiones	ppm	meq.100g <sup>-1</sup>		
	P	K	Ca	Mg
315	5.51	0.273	10.89	3.53
370	5.61	0.264	10.97	3.61
360	5.37	0.267	10.98	3.65
371	5.52	0.286	10.75	3.56
346	5.82	0.286	10.69	3.55
354	5.30	0.282	10.55	3.53
388	5.59	0.272	10.49	3.54
369	5.83	0.283	10.60	3.59
303	5.47	0.278	10.66	3.59
339	5.62	0.264	10.77	3.54
302	5.41	0.277	10.83	3.56
326	5.55	0.278	10.66	3.54
361	5.79	0.271	10.47	3.46
396	5.73	0.280	10.48	3.52