

Determinación del fósforo disponible en el suelo por el método de Bray

Actividad del Comité de Química de la AACCS *

Graciela Boschetti⁽¹⁾, Cesar Quintero⁽¹⁾, Martín Diaz-Zorita⁽²⁾, Miriam Barraco⁽²⁾

(1) Facultad Ciencias Agropecuarias UNER

(2) EEA Gral Villegas INTA

gboschet@arnet.com.ar

Publicado en Informaciones Agronómicas del Cono Sur, N°17, Marzo 2003.

Introducción

En 1945, Bray y Kurtz proponen un método rápido para estimar las formas de fósforo disponible para las plantas. En resumen, el método conocido como Bray 1 se trata de una extracción con una solución mezcla de NH_4F 0,03N y HCl 0,025N, que se basa en el efecto solubilizador del H^+ sobre el P del suelo y la capacidad del ión F^- de bajar la actividad del Al^{+3} , evitando la readsorción de los fosfatos en el sistema de extracción (Soil and Plant Analysis Council, 1992; Kuo, 1996). Ellos plantearon trabajar con 1 gramo de suelo y 7 ml de solución extractiva, agitando vigorosamente por un minuto, para luego determinar el P en el extracto.

En nuestro país este método se aceptó ampliamente con algunas modificaciones propuestas por el INTA Balcarce. Las mismas consistieron en prolongar el tiempo de agitación a 5 minutos, hecho que facilita la operatoria, además de trabajar con 2,5 g de muestra y 20 ml de solución extractiva, lo que da una relación de 1:8. En 1991, el Comité de Química de la AACCS realizó la II Jornada Nacional de Fósforo en el suelo, donde se propuso la determinación del P disponible en una relación suelo-solución extractiva de 1:7 agitando durante 5 minutos como método de referencia dentro del Programa de Métodos Analíticos de Referencia del SAMLA (Sistema de Apoyo Metodológico de Laboratorios de Suelos y Aguas). A pesar de estos antecedentes, surge la necesidad de obtener información actualizada que permita afirmar si están o no unificados los criterios de análisis en la determinación del fósforo extraíble por el método de Bray y Kurtz N° 1. Para lograr este objetivo se realizó una encuesta a Laboratorios de análisis de suelos y/o Centros de Investigación del país, en relación a aspectos que hacen al proceso de extracción del P tales como: la relación suelo-solución extractiva, tiempo y tipo de agitación y aspectos relacionados a la determinación de P del extracto como el método de desarrollo de color, longitud de onda de lectura espectrofotométrica y la periodicidad de la realización de la curva de calibrado. Con un mayor conocimiento de estos factores podrían solucionarse algunos problemas asociados con la interpretación del resultado del análisis de P extraíble, ya que las diferencias metodológicas plantean dudas sobre la posibilidad de comparación de los resultados. A fin de evaluar estos aspectos, se realizó una experiencia con un suelo Hapludol típico de la provincia de Buenos Aires y con un suelo Argiudol ácuico de la provincia de Entre Ríos, donde se midió el efecto de la relación suelo:solución, el tiempo de agitado y la forma de agitación sobre la cantidad de P extraída, en cuatro repeticiones.

Resultados

A partir del relevamiento se pudo observar que existen diferencias en la operatoria para la determinación del P disponible por el método de Bray y Kurtz 1, lo que evidencia que, a pesar de la reunión de 1991 y las recomendaciones del SAMLA, algunos laboratorios continuaron utilizando la metodología que venían desarrollando anteriormente.

De los 30 laboratorios que respondieron a las encuestas (Tabla 1), todos coincidieron en que utilizan una solución extractiva de NH_4F 0,03N y HCl 0,025N. Se trabaja entre 1 y 5 gramos de muestra de suelo para la determinación, pero el 38,5 % de los

laboratorios lo hace en una relación con la solución extractiva de 1:7, el 57 % en relación 1:8 y 10,5 % utilizan una relación 1:10. Es conocido que el incremento de la relación suelo/solución provoca un aumento de la cantidad extraída. No hubo diferencias significativas entre las relaciones 1:7 y 1:8, aunque la cantidad extraída aumentó ligeramente. La diferencia fue significativa cuando la relación se incrementó desde 1:7 a 1:10, extrayendo 10 a 20 % más de P (Figura 1).

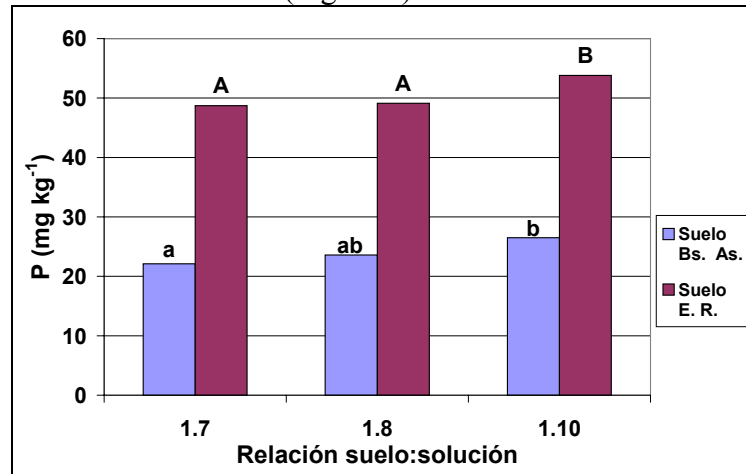


Figura 1. Efecto de la relación suelo:solución extractiva sobre la cantidad de fósforo extraíble. Agitación 5 minutos en tubos acostados.

El tiempo de agitación que mayoritariamente utilizan los laboratorios es de 5 minutos (71%) dado que resulta más conveniente a los fines prácticos. Un 21% agita durante 1 minuto y solo unos pocos lo hacen en 2 y 7 minutos. El efecto del tiempo de agitación puede apreciarse en la Figura 2. Se observaron diferencias significativas en los valores de P extraíble cuando el tiempo de agitación del suelo con la solución extractiva, varió de 1 a 5 minutos.

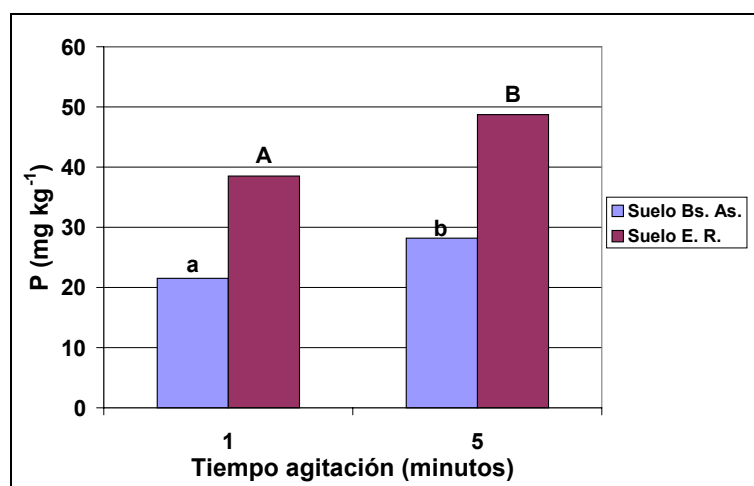


Figura 2. Efecto del tiempo de agitación sobre la cantidad de fósforo extraíble. Relación 1:7, agitando en tubos acostados.

Los recipientes y formas de agitación utilizados son variados pero en general se utilizan tubos o envases plásticos agitados horizontalmente con el tubo acostado o erlenmeyers agitados en forma rotativa. Este es un aspecto a tener en cuenta dado que el contacto del suelo con la solución es mayor si los tubos están acostados y no parados. Es recomendable el uso de tubos de un volumen 30 a 50% superior al volumen de extracción

para permitir el movimiento del líquido, con una energía de agitación de alrededor de 180 golpes por minuto, que según lo reflejado en las encuestas es la más usada.

El uso de erlenmeyer o tubos acostados mostraron resultados similares de extracción, mientras que en el caso de agitar con el tubo en posición vertical, se extrajo una cantidad significativamente menor, lo que deja en evidencia la importancia de este aspecto del proceso de extracción (Figura 3).

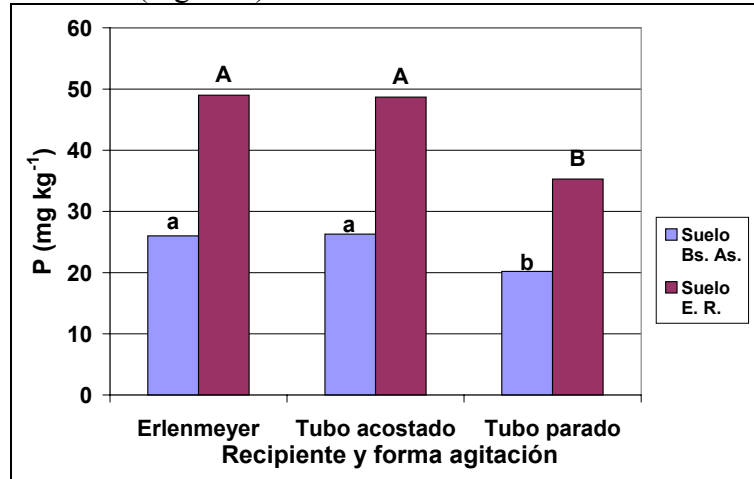


Figura 3. Efecto del recipiente y la forma de agitación sobre la cantidad de fósforo extraíble. 5 minutos de extracción, relación 1:7.

En casi el 80% de los laboratorios se filtra el extracto antes del desarrollo de color y el resto lo centrifuga. El centrifugado tiene la ventaja de su practicidad y economía. Experiencias realizadas muestran que para lograr extractos claros es suficiente con un centrifugado de 5 minutos a 5000 rpm.

Más del 85% utiliza el método de Murphy y Riley (1962) para el desarrollo de color, sin tener en claro el efecto de la molaridad del sulfúrico. Al respecto, Rodríguez *et al.* (1994) concluyeron que la acidez óptima del color azul del complejo fosfomolibdato es la comprendida entre 0,17 y 0,28 M H₂SO₄. En este rango se logra la estabilidad del color azul, la cual fue llamada “plateau de estabilidad frente a la acidez”. Esto se refiere a la estabilidad de la lectura para una misma concentración de P (Figura 4).

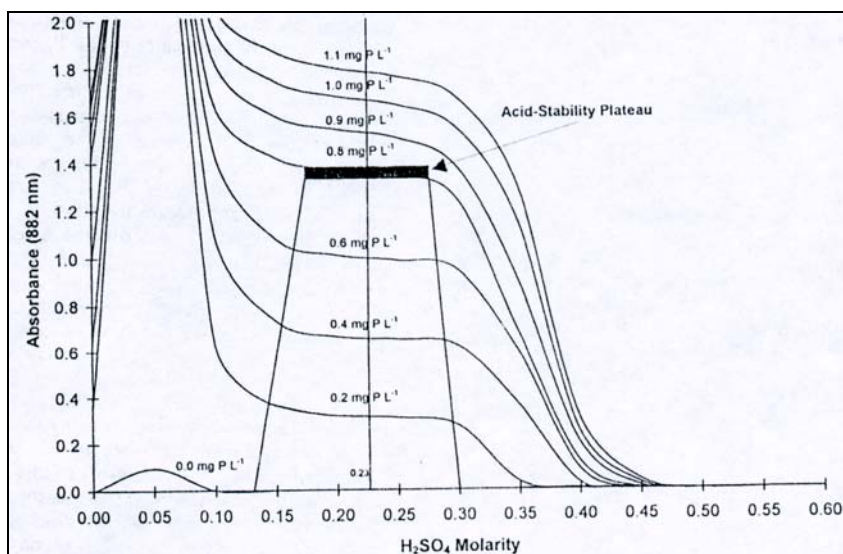


Figura 4. Efecto de la concentración del ácido H₂SO₄ sobre la absorbancia del complejo azul de molibdeno para distintas concentraciones de P, luego de 10 minutos de adicionado el reactivo color.

Cuando la molaridad es inferior a este límite, la lectura de absorbancia aumenta considerablemente y por el contrario, cuando está por encima, disminuye generando errores. Este problema puede presentarse cuando se utilizan extractos con poca concentración de P y se extraen altas alícuotas para el desarrollo de color o, en el caso inverso, cuando en extractos de altas concentraciones de P donde se toman alícuotas muy pequeñas. Además hay que tener en cuenta que la ley de Beer deja de cumplirse con concentraciones de lectura superiores a 0,84 mg de P L⁻¹, así como el “plateau” es menos observable por encima de 0,80 mg de P L⁻¹, por lo tanto la concentración de P en la solución de lectura no debería superar este valor (Jackson, 1976, Rodríguez *et al.* 1994).

Los laboratorios realizan las lecturas espectrofotométricas de absorción para el color azul de molibdeno en una longitud de onda que va desde 590 a 890 nm, aunque un 32% lee en cercanías del los 660 nm, la mayor parte lo hace en torno a 882 nm, que sería la mas recomendada.

La mayoría realiza una curva de calibración diariamente (57%) o semanalmente (14%) utilizando un promedio de 5 puntos de lectura. Es conveniente realizar un control diario, al menos con dos puntos y un blanco, esto permite detectar errores, contaminaciones o diferencias en la lectura del equipo.

Consideraciones finales

Es probable que las diferencias que se observan en los procedimientos operativos en la determinación de P disponible por el método de Bray y Kurtz 1, entre los diferentes laboratorios, consideradas individualmente no sean de una magnitud importante. Sin embargo, la suma de efectos podría resultar en la obtención de valores no comparables. Es por ello que se sugiere la unificación de los procedimientos prácticos en esta determinación, para una mejor interpretación de los resultados obtenidos.

La estandarización del tiempo de agitado en 5 minutos, en una relación suelo:solución 1:7 a 1:8, agitando en tubos acostados o erlenmeyers, permitiría obtener resultados comparables.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los responsables de los laboratorios de análisis de suelo que respondieron la encuesta, sin cuya colaboración no se hubiera podido realizar este relevamiento.

Tabla 1. Resultados de la encuesta sobre el método de Bray y Kurtz 1

N°	Categoría Laboratorio		Gramos muestra	ml solución Extractiva	Relación suelo:solución	Recipiente de extracción	Tiempo de agitación	Forma de agitación	Longitud onda de lectura (nm)
1	Servicio	Privado	2,5	20	8	Tubo de 50 ml	5 minutos	Rotativo tubo acostado	882
2	Investigación	Estatal	5	50	10	Erlenmeyer	1 minuto	Manual Rotativo	660
3	Servicio	Privado	2,5	25	10	Tubo 100 ml	5 minutos	Horizontal tubos parados	890
4	Servicio	Privado	1,43	10	7	Frasco plástico de 20 ml	5 minutos	Rotativo	650
5	Servicio	Privado	2,5	20	8	Erlenmeyer 125 ml	5 minutos	Golpes	882
6	Servicio-Investiga.	Estatal	1,5	10	7	Erlenmeyer 125 ml	1 minuto	Vaivén	N/C
7	Servicio-Investiga.	Estatal	2,5	20	8	Erlenmeyer 125 ml	5 minutos	Vaivén	882
8	Servicio-Investiga.	Estatal	2,5	20	8	Tubo rollo de fotografía	5 minutos	Horizontal tubo acostado	590-670
9	Servicio	Privado	1,43	10	7	Erlenmeyer 100 y 250 ml	1 minuto	Horizontal tubo parado	650
10	Servicio-Investiga.	Estatal	2,5	20	8	Tubo 100 ml	5 minutos	Tubo tubo parado	882
11	Investigación	Estatal	2,5	20	8	Tubo 50 ml	5 minutos	Vaivén, tubo acostado	882
12	Servicio-Investiga.	Estatal	2,5	17,5	7	Frasco plástico 100 ml	2 minuto	Horizontal, acostado	660
13	Investigación	Estatal	5	35	7	Erlenmeyer de 125ml	1 minuto	Manual Rotativo	660
14	Servicio	Privado	2,5	20	8	Erlenmeyer de 50ml	5 minutos	Rotativo	880
15	Investigación	Estatal	1	7	7	Erlenmeyer de 125ml	1 minuto	Vertical	660
16	Servicio-Investiga.	Estatal	2,5	20	8	Tubo de 50 ml	5 minutos	Horizontal tubo acostado	882
17	Servicio	Privado	2,5	20	8	Erlenmeyer de 125ml	5 minutos	Rotativo	882
18	Investigación	Estatal	2,5	20	8	Tubo 50 ml	5 minutos	Horizontal tubo acostado	882
19	Servicio	Privado	2,5	20	8	Tubo 50 ml	5 minutos	Horizontal tubo acostado	882
20	Investigación	Estatal	1	7	7	Tubo 10 ml	5 minutos	Horizontal tubo acostado	882
21	Investigación	Estatal	2,5	25	10	Tubo 50 ml	5 minutos	Horizontal tubo parado	882
22	Servicio-Investiga.	Estatal	3	21	7	Erlenmeyer 30ml	1 minuto	Manual Rotativo	880
23	Servicio-Investiga.	Estatal	2,5	20	8	Tubo 50 ml	5 minutos	Horizontal tubo acostado	880
24	Servicio	Privado	2,85	20	7	Envase plástico descartable de 120ml	5 minutos	Rotativo	670
25	Investigación	Estatal	2,5	20	8	Erlenmeyer 125ml	5 minutos	Horizontal tubo parado	882
26	Servicio	Privado	2,5	20	8	Vaso plastico de 100 ml	7 minutos	Horizontal vaso parado	660
27	Investigación	Estatal	2,5	20	8	Snap de 100ml	5 minutos	Horizontal tubo parado	880
28	Investigación	Estatal	2,5	20	8	Tubo	5 minutos	Horizontal tubo acostado.	890
29	Investigación	Estatal	2,5	20	8	Tubo 50 ml	5 minutos	Horizontal tubo parado	882
30	Servicio	Privado	1	7	7	Tubo 10 ml	5 minutos	Horizontal tubo acostado.	660

Referencias

- AACS. 1991. II Jornada Nacional del Fósforo del Suelo. Comité de Química de la Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. PROMAR (Programa de Métodos Analíticos de Referencia).
- Bray, R. H. y Kurtz, L. T. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Handbook on reference methods for soil analysis. 1992. Soil and Plant Analysis Council Inc. ISBN 0-9627606-1-7. United States of America. 202 p.
- Jackson M. L. 1976. Determinaciones del fósforo para suelos. P. 190-253. *En Análisis Químico de Suelos*. Ediciones Omega, S. A. Barcelona.
- Kuo S. 1996. Phosphorus. *In: Methods of Soil Analysis*. SSSA - ASA. p: 868-919.
- Murphy J. y Riley H. P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27: 31-36.
- Rodríguez J. B.; Self J. R. y Soltanpour P. N. 1994. Optimal conditions for phosphorus analysis by the ascorbic acid-molybdenum blue method. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58:866-870.