



**EVALUACIÓN DE MÉTODO DE ANÁLISIS DE NITRATOS (NO₃) EN SUELOS CON
ANALIZADOR DE FLUJO SEGMENTADO (SFA)**

Santiago Amaya Salcedo

Proyecto presentado para optar al título de Ingeniero Bioquímico

Asesora

Laura Inés Pinilla Mendoza, Doctor (PhD) en Biología

Universidad de Antioquia

Facultad de Ingeniería

Ingeniería Bioquímica

El Carmen de Viboral, Antioquia, Colombia

2024

Cita	Amaya Salcedo [1]
Referencia Estilo IEEE (2020)	[1] Amaya Salcedo, “Evaluación de método de análisis de nitratos en suelos con Analizador de Flujo Segmentado (SFA)”, Trabajo de grado profesional, Ingeniería Bioquímica, Universidad de Antioquia, El Carmen de Viboral, Antioquia, Colombia, 2024.



Biblioteca Seccional Oriente (El Carmen de Viboral)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Agradecimientos

A mi familia por el apoyo incondicional en estos años de estudio.

A mis asesoras Jennifer Ortega y Laura Inés Pinilla, quienes me acompañaron y guiaron en el desarrollo de este proyecto y también a Cornare por permitirme ser parte de su corporación, creciendo personal y profesionalmente.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
I. INTRODUCCIÓN	10
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
III. JUSTIFICACIÓN	14
IV. OBJETIVOS	15
A. Objetivo general	15
B. Objetivos específicos	15
V. MARCO TEÓRICO	16
VI. METODOLOGÍA	18
VII. RESULTADOS	22
VIII. DISCUSIÓN	26
IX. CONCLUSIONES	29
REFERENCIAS	30
ANEXOS	32

LISTA DE TABLAS

TABLA 1: Parámetros fisicoquímicos de los suelos negro, café y amarillo	24
TABLA 2: Fracciones másicas de nitratos en los suelos negro y café para las metodologías de extracción con agua y KCl	24
TABLA 3: Concentraciones y fracciones másicas resultantes de la prueba de conservación con suelo café	26

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Fracciones másicas de nitratos para los 6 tipos de suelo. 22
- Fig. 2. Porcentajes de diferencia relativa (%RPD) de las fracciones másicas resultantes de extracción con agua y KCl para los 6 tipos de suelos analizados. 23
- Fig. 3. Resultados de la prueba de varianzas F-fisher para suelo negro y café 25
- Fig. 4. Datos obtenidos de la prueba de varianzas F-fisher en el suelo café entre ambos grupos de muestras con una hipótesis alternativa (H1) de $\sigma^2_{H2O} > \sigma^2_{KCl}$. 26

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

SFA	Analizador de Flujo Segmentado
CFA	Analizador de Flujo Continuo
FIA	Analizador por Inyección de Flujo
NH₄	Amonio
NO₃	Nitratos
KCl	Cloruro de potasio
LQM	Límite de cuantificación (Rango de aplicación bajo)
ICV	Verificación de calibración inicial
CCV	Verificación de calibración continua
%RPD	Porcentaje de diferencia relativa
μ	Media muestra
σ	Varianza muestral

RESUMEN

El proyecto estuvo enfocado en la determinación de nitratos en muestras de suelo con el uso del equipo analítico Analizador de Flujo Segmentado SFA, con el propósito de evaluar y estandarizar una metodología designada en el protocolo del área de suelos de la corporación de Cornare. Para cumplir con los propósitos mencionados se comenzó estudiando los fundamentos básicos para entender el funcionamiento del equipo, conociendo su estructura y unidades que lo conforman, además de los conceptos básicos relacionados con este análisis, que permitieran tener un punto de partida en la metodología planteada en el proyecto. De esta forma se diseñaron tres ensayos experimentales; el primero de ellos con 6 tipos de suelos de diferente coloración y tiempo de recolección para observar posibles cambios en el contenido de nitratos a lo largo del tiempo, haciendo una evaluación en un tiempo 0 y luego de 15 días desde que la muestra ingresa al laboratorio. El segundo ensayo consistió en una prueba con dos tipos de suelo, seleccionando el suelo negro y café, los cuales presentaron mayores diferencias en sus respectivos parámetros fisicoquímicos, en donde se evaluaron los parámetros de los 6 tipos de suelos empleados en el primer ensayo. Para estos dos tipos de suelos se determinaron sus fracciones másicas de nitratos, haciendo 8 repeticiones por cada una de las dos metodologías de extracción seleccionadas; en la primera empleando agua y en la segunda metodología empleando KCl como solución de extracción y evaluando así la solución más adecuada por medio de un análisis estadístico de varianzas. Por otro lado, en un tercer ensayo se almacenó la solución extraída de uno de los suelos analizados para procesarla en SFA luego de 15 días e identificar posibles cambios en las cantidades de nitratos.

Según los resultados obtenidos en las pruebas realizadas en el equipo SFA, se observó en el primer ensayo que las cantidades de nitratos para los 6 tipos de suelo presentaron una diferencia relativa (RPD) menor al 20% en el tiempo 0 y luego de 15 días, siendo valores aceptables dentro de los criterios del laboratorio de suelos. Además, los resultados del segundo ensayo permitieron identificar que la solución de KCl agregada en una relación 1:5 de suelo-solución, es la solución de extracción más adecuada para el desarrollo del método. Finalmente se observó en un tercer ensayo que la diferencia relativa entre las cantidades de nitratos evaluadas en ambos tiempos era del 5.56%, aceptando una posible refrigeración de la solución extraída del suelo, empleando un mismo tiempo de almacenamiento que en las muestras de aguas presentes en el laboratorio.

Palabras clave: nitratos, solución de extracción, suelo, protocolo, SFA.

ABSTRACT

The project was focused on the determination of nitrates in soil samples with the use of the analytical equipment Segmented Flow Analyzer SFA, with the purpose of evaluating and standardizing a methodology designated in the protocol of the soil area of the Cornare corporation. In order to fulfill the above mentioned purposes, we began by studying the basic fundamentals to understand the operation of the equipment, knowing its structure and units that conform it, in addition to the basic concepts related to this analysis, which would allow us to have a starting point in the methodology proposed in the project. In this way, three experimental tests were designed; the first one with 6 types of soils of different coloration and collection time to observe possible changes in nitrate content over time, making an evaluation at time 0 and after 15 days from the time the sample enters the laboratory. The second trial consisted of a test with two types of soil, selecting the black and brown soil, which presented greater differences in their respective physicochemical parameters, where the parameters of the 6 types of soil used in the first trial were evaluated. For these two types of soils, their nitrate mass fractions were determined, making 8 replicates for each of the two extraction methodologies selected; in the first using water and in the second using KCl as the extraction solution, thus evaluating the most adequate solution by means of a statistical analysis of variance. On the other hand, in a third trial, the solution extracted from one of the soils analyzed was stored for processing in SFA after 15 days to identify possible changes in the amounts of nitrates.

According to the results obtained in the tests carried out in the SFA equipment, it was observed in the first test that the amounts of nitrates for the 6 types of soil showed a relative difference (RPD) of less than 20% at time 0 and after 15 days, being acceptable values within the criteria of the soil laboratory. In addition, the results of the second test allowed identifying that the KCl solution added in a 1:5 soil-solution ratio is the most adequate extraction solution for the development of the method. Finally, it was observed in a third trial that the relative difference between the amounts of nitrates evaluated in both times was 5.56%, accepting a possible refrigeration of the solution extracted from the soil, using the same storage time as in the water samples present in the laboratory.

Keywords: nitrates, extraction solution, soil, protocol, SFA.

I. INTRODUCCIÓN

La Corporación Autónoma Regional de las Cuencas de los Ríos negro y Nare “CORNARE” es una corporación autónoma creada por la ley, para administrar los recursos naturales renovables bajo las políticas vigentes del Ministerio de Ambiente y Desarrollo sostenible. Por otro lado, Cornare cuenta con un laboratorio ambiental que busca ayudar en la implementación de los diferentes proyectos y programas enfocados en la gestión integral del recurso hídrico, otorgando información física, química y microbiológica de la matriz agua.

Cabe mencionar que el laboratorio Ambiental de Cornare fue el primer laboratorio en el país en ser acreditado por el IDEAM – Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales bajo la norma NTC-ISO/IEC 17025, a lo largo de sus 30 años de creación del laboratorio y mediante el desarrollo de diferentes programas se ha logrado ampliar sus servicios y estudiar otras matrices como aire-ruido, suelo, lodos, sedimentos, entre otros servicios que han adquirido importancia en la legislación ambiental [1].

De esta forma la matriz suelo toma cada vez más relevancia en el análisis de los recursos naturales, siendo objeto de estudio en la búsqueda de una caracterización de diversos suelos del país promoviendo el aprovechamiento y conservación del suelo en las actividades productivas, ya que según el DANE en 2014 el 38.6% (43 millones de ha) del área rural total censada es para uso agropecuario, en donde el 19.7% corresponde a actividades agrícolas; es decir que únicamente se emplean 7.1 millones de hectáreas en cultivos [2], dejando ver la necesidad de tener suelos más productivos en las diferentes regiones del país, en donde la disponibilidad de los macronutrientes en el suelo, es fundamental para tener un manejo responsable en la producción de cultivos [3].

Dentro de los macronutrientes del suelo podemos encontrar el sodio, fósforo, calcio, magnesio, nitrógeno y potasio, siendo el nitrógeno uno de los macronutrientes más importantes transferidos a las plantas, formando parte de la estructura de aminoácidos, proteínas y otras biomoléculas; además de intervenir en procesos de fotosíntesis, respiración y diferenciación celular [4]. Sin embargo, no hay concentraciones establecidas para dicho nutriente que sean adecuadas para cierta actividad productiva, por lo que según las cantidades determinadas de nitrógeno deberán tomarse medidas acerca de una posible dosificación de productos agroquímicos para aumentar la disponibilidad de nitrógeno o por el contrario de implementar procesos químicos y/o biológicos que disminuyan las cantidades de nitrógeno en el suelo.

Es por lo anterior que desde hace tres años el laboratorio ambiental ha incorporado un área de estudio y análisis de suelos, presentando un portafolio con una serie de análisis, como porcentaje de humedad, pH, minerales intercambiables, materia orgánica, textura, entre otros. Dichos análisis son realizados bajo métodos de referencia establecidos, que permiten un aseguramiento de los resultados obtenidos, sin embargo, ahora existe el propósito de agregar métodos en el portafolio de análisis de suelos, que brinden un análisis completo de fertilidad para el manejo agrícola. Siendo la determinación de nitrógeno uno de los análisis de mayor prioridad para el laboratorio ambiental, buscando así la estandarización del protocolo de análisis de nitratos y la definición de la técnica de determinación.

Para lograr este objetivo se emplearán diferentes tipos de muestras a las cuales se les hará un proceso de extracción y serán leídas con el Analizador de Flujo Segmentado (SFA), que es empleado para el análisis y cuantificación de fuentes de Nitrógeno y Fosforo en muestras de agua, siendo la herramienta principal para respaldar los resultados de las muestras analizadas. De esta manera se planteó inicialmente una prueba para observar los cambios en las cantidades de nitratos en el tiempo, una segunda prueba que evalúa dos metodologías de extracción de nitratos en donde se define inicialmente el cloruro de potasio (KCl) y agua destilada como las soluciones de extracción a evaluar y un tercer ensayo en el que se evalúa el tiempo de almacenamiento de la solución extraída de una muestra de suelo. Las soluciones de extracción empleadas en el segundo ensayo se definieron con base a métodos de la literatura referente a análisis de nitratos en suelos, además dichas soluciones son implementadas frecuentemente para la extracción de nitratos por su gran capacidad de extracción mediante una reacción de intercambio iónico [5][6].

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En muchas ocasiones el suelo es empleado para actividades inadecuadas según sus propiedades y características, generando desequilibrios negativos con bajos rendimientos económicos y productivos, además de presentar un progresivo deterioro del suelo.

El panorama en Colombia no es muy diferente al mencionado anteriormente y es que a nivel regional se distingue un conflicto en el uso del suelo, dirigiendo este recurso en actividades que no son aptas para el tipo de suelo empleado en dicha actividad. Es decir, que Colombia presenta un uso irracional e ineficiente del recurso natural, subutilizando o sobre utilizando el suelo en diferentes actividades productivas. Según esto podemos mencionar que la agricultura sólo usa el 24 % del suelo para esta actividad, aportando el 63.4 % del valor de la producción, mientras la ganadería bovina sobre utiliza apreciablemente los suelos y deteriora los recursos naturales en una actividad más extensiva que intensiva, aportando sólo el 26.6 % del valor de la producción. [7]. Y aunque el suelo sea sinónimo de economía e ingresos cuando es usado adecuadamente, en este caso sólo genera una preocupación por la mala implementación de este recurso en las actividades productivas del país.

Con base a lo anterior, el principal problema radica en el desconocimiento del potencial del suelo para cierto tipo de actividad productiva, lo cual se determina con base a un análisis de fertilidad mediante sus parámetros fisicoquímicos, como materia orgánica, minerales intercambiables o presencia de nutrientes, haciendo referencia principalmente al nitrógeno, el cual es considerado el nutriente más importante transferido del suelo a las plantas [4].

Además, surgen otras problemáticas relacionadas con los métodos empleados y los equipos diseñados para la cuantificación de nitrógeno y de otros nutrientes presentes en el agua y el suelo. Estos análisis de nutrientes generan opciones de mejora y automatización que permitan obtener resultados de validez mediante la implementación de tecnologías recientes y estudios actualizados de extracción de nutrientes en suelos.

A. Antecedentes

Desde mediados del siglo XX comenzó el auge de los métodos químicos en la determinación de nutrientes inorgánicos en matrices de agua, desarrollando métodos específicos para la determinación de algunos nutrientes como silicato, nitrito, nitrato, fosfato y amonio. Un estudio realizado en México en el 2003 muestra una comparación de métodos de flujo continuo y

estándar en la cuantificación de nitritos y nitratos en muestras de agua, concluyendo que el método por flujo continuo disminuye los costos en un 85% y garantiza una reducción del tiempo en un 90% [8]. Por otro, el artículo de Fronteras de Ciencias Marinas hace referencia a un manual de GO-SHIP en donde describen detalladamente el funcionamiento del Analizador CFA con énfasis en flujo segmentado para la determinación de diferentes macronutrientes inorgánicos, mostrando la importancia de incorporar controles de calidad [9].

En cuanto a la matriz suelo, se destaca una investigación acerca de la determinación de nitratos y amonio en muestras de suelo por los métodos de colorimetría y Electrodo de ion selectivo (EIS), en donde se logra determinar que el método EIS presenta ventajas con respecto al método de colorimetría, sin embargo, ambos métodos empleados son alternativas económicas y rápidas de emplear para la cuantificación de nitratos [10]. Además, en 2005 se realizaron pruebas de análisis de nitratos con SFA y reflectómetro RQflex para observar la reproducibilidad de los datos en el tiempo, validando también los dos métodos analíticos en cuanto a su rapidez y confiabilidad para la determinación de nitratos, concluyendo que es acertado implementar SFA por su alto grado de precisión, dejando abierta la posibilidad de estudiar y evaluar las condiciones operativas del método desarrollado. [11]

III. JUSTIFICACIÓN

La fertilidad del suelo es una característica esencial que se genera de la interacción de las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo suelo, que ayudan a presentar un entorno adecuado para el crecimiento y desarrollo de las plantas [4]. De tal manera que los análisis de fertilidad en suelos sean necesarios para conocer el potencial agrícola en el suelo evaluado.

De acuerdo con las necesidades nutricionales requeridas por las plantas para permitir un correcto crecimiento en el desarrollo de actividades agrícolas, se hace importante la identificación y el análisis de las concentraciones presentes de NH₄ y NO₃ para hacer una gestión de mejora y plantear alternativas de aprovechamiento de los recursos naturales renovables [12]. Por lo que el diagnóstico preciso de nitratos en suelos permite planificar el manejo y corregir deficiencias nutricionales a través de fertilizantes [6].

En el desarrollo de un adecuado diagnóstico es necesario contar con métodos de análisis que garanticen resultados correctos de la concentración del ion nitrato en el suelo, siendo esencial que los métodos sean comprobados y validados [12]. Para ello se cuenta en el laboratorio ambiental de Cornare con un Analizador de Flujo Segmentado (SFA), que es una de las tecnologías más avanzadas y modernas en la determinación automatizada de nutrientes en muestras acuosas [13]. Por lo que la implementación adecuada del equipo y el tratamiento correcto de las muestras permitirá la determinación de las cantidades de nitratos para abordar los ensayos propuestos en el proyecto y de esta forma lograr una estandarización del método de cuantificación de nitratos en muestras de suelo, que pueda ser incorporado en el portafolio de análisis del laboratorio ambiental.

IV. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Estandarizar las condiciones operativas del protocolo de análisis de nitratos en suelos por medio del analizador de flujo segmentado SFA, para implementar adecuadamente una metodología en muestras de suelo.

B. Objetivos específicos

- Identificar un rango de tiempo apropiado para realizar los análisis de nitratos en muestras de suelo, observando si existen cambios en el contenido de nitratos dentro del suelo a lo largo del tiempo.
- Determinar la solución de extracción más adecuada para la cuantificación de nitratos en muestras de suelo, según los valores resultantes de las pruebas desarrolladas en SFA y los análisis estadísticos realizados.
- Validar el funcionamiento del método en el SFA con el protocolo establecido, empleando los controles internos requeridos para el aseguramiento de los resultados.

V. MARCO TEÓRICO

El nitrógeno hace parte de las principales fuentes nutricionales requeridas por la planta, siendo considerado como el más importante, en donde la falta de disponibilidad de este nutriente genera dificultades en el crecimiento y desarrollo de toda la vegetación presente en el planeta. El nitrógeno puede llegar a ser un elemento versátil al presentarse de diversas formas en la naturaleza, debido a una serie de reacciones que permiten cambios constantes que influyen en la formación de nuevos compuestos [14]. Una de las formas más abundantes que encontramos en la naturaleza es el nitrógeno gaseoso (N₂), en gran parte proveniente de la atmósfera. Sin embargo, esta molécula no puede ser asimilada por las plantas, mientras que algunas bacterias y otros microorganismos tienen la capacidad de fijar el nitrógeno para transferirlo a la planta como ureidos o aminoácidos [14].

La fijación del nitrógeno por estos microorganismos especializados permite comprender de una mejor forma el funcionamiento del ciclo bioquímico del nitrógeno, en el cual se identifican las reacciones que derivan en las formas comunes del nitrógeno, destacando el amonio (NH₄⁺) y el nitrato (NO₃⁻), obtenidos a partir de un proceso de nitrificación mediado principalmente por bacterias nitrificantes. Tanto el NH₄⁺ como el NO₃⁻ hacen parte de una pequeña proporción del nitrógeno total de los suelos, sin embargo, estos son los elementos que las plantas usan desde la solución del suelo para satisfacer sus necesidades nutricionales y que varían según factores, como pH o materia orgánica, donde el NO₃⁻ en ciertos suelos de Colombia se encuentran entre 3 y 78 mg de NO₃⁻ por kg de suelo [14]. A partir de esto, se resalta la importancia de fijar el N₂ del ambiente, permitiendo tener formas simples de nitrógeno que puedan ser empleadas para su absorción. Aunque el amonio y el nitrato son esenciales para las plantas, estos pueden llegar a transformarse continuamente presentando pérdidas significativas en el nitrógeno total de la planta (N-planta), siendo necesario evitar procesos como la lixiviación, volatilización del amonio o la desnitrificación [14].

Una de las tecnologías que evalúa y determina las concentraciones de nitrógeno es el Analizador de Flujo Segmentado (SFA), que fue implementado por primera vez en 1957. En el equipo las muestras son aspiradas secuencialmente y separadas por burbujas de aire que segmentan el flujo establecido, incluyendo un ciclo de lavado intermedio para evitar la contaminación entre muestras [15].

El equipo SFA cuenta con 3 unidades generales; auto muestreador, unidad química e interfase. Para cada una de estas unidades existe una amplia gama de variaciones, por lo que el analizador de flujo segmentado puede ser personalizado en cada una de sus unidades según las necesidades del cliente y el tipo de análisis que se vaya a desarrollar [13].

Dentro de los requisitos de operación del equipo, encontramos que únicamente permite el paso de soluciones acuosas a través de la unidad química, es decir que para emplear un análisis en suelos se requiere inicialmente una extracción de los nitratos de la muestra utilizando una solución de cloruro de potasio KCl 1M según la norma ISO 14256-2 o agua destilada como se menciona en la guía de “Diagnóstico y mejoramiento de suelos salinos y alcalinos”, las cuales serán evaluadas dentro del segundo ensayo experimental [16], [17].

El análisis de nitratos dentro del equipo SFA consiste en la formación de un tinte rojo generado a partir de la reacción de la muestra con el compuesto NEDD y sulfanilamida, dicho tinte es medido a una absorbancia de entre 520-540 nm. Dentro del proceso primero se reduce el nitrato a nitrito mezclando la muestra con una solución buffer y pasando posteriormente sobre una columna de cadmio que cataliza la reacción de reducción, resultando así una cantidad total de nitrato que es la cuantificada por el software del equipo SFA [9].

Cabe agregar que al igual que para muestras de agua, el manual del equipo tiene designado un diagrama de flujo para cada uno de los análisis de nutrientes en muestras de suelo, es decir que, una vez obtenido el extracto filtrado de la muestra, se dispondrá la unidad química del SFA según el diagrama designado para análisis de nitratos en suelos. Dichos extractos son agregados al auto muestreador al igual que los controles necesarios para el aseguramiento de la validez de los resultados, siendo importante implementar los controles de verificación de concentración conocida, con el objetivo de asegurar que el análisis se esté realizando de la forma correcta, además de emplear una matriz fortificada o adición, que consiste en añadir a la muestra una concentración conocida de un material de referencia específico para nitratos y comparar el valor resultante con el valor de la muestra sin adición para identificar que el método esté cuantificando correctamente el analito de interés [9].

VI. METODOLOGÍA

Inicialmente es requerido conocer los fundamentos básicos del funcionamiento del Analizador de Flujo Segmentado (SFA) SAN⁺⁺® de SKALAR, además de las metodologías de extracción de nitratos por medio de una revisión bibliográfica de libros, artículos e investigaciones, la cual es realizada durante todo el desarrollo del proyecto. De esta forma se han seleccionado dos metodologías a implementar en muestras de suelo, que son la metodología de la norma ISO 14256-2, que describe una extracción con una solución de KCl 1M [16] y la segunda metodología es la descrita por L.A. Richards en la guía de “Diagnóstico y mejoramiento de suelos salinos y alcalinos”, que implementa agua para la extracción de nitratos [17].

Recolección y tratamiento de muestras

Para el desarrollo del proyecto se analizaron 6 tipos de suelo; negro, café, amarillo, abono, “dirección” y “parqueadero”. De los cuales, los primeros tres son suelos anteriormente dispuestos y caracterizados en la corporación y los dos últimos son recolectados de dos zonas de Cornare, de ahí sus respectivos nombres. Estas muestras de suelo son recolectadas usando un barreno de muestreo y almacenando el suelo en bolsas ziploc. Las muestras de suelo son llevadas a bandejas con papel Kraft para ser secadas al exterior de uno a dos días según sea necesario, posteriormente las muestras son molidas en un molino de martillo para suelos TE-330/1 KASALAB y tamizadas en malla de 2mm [10].

NOTA: Es necesario aclarar que los 6 tipos de suelo son procesados únicamente para observar los cambios en las concentraciones de nitratos a diferentes tiempos (0 y 15 días) **desde la toma de la muestra**, que es el primer objetivo del proyecto y que sería el **primer ensayo** por realizar. Por otro lado, el **segundo ensayo** es la evaluación de las dos metodologías propuestas con KCl y agua, el cual se hizo únicamente con dos tipos de suelo, que son seleccionados a partir de los tres tipos de suelo dispuestos en la corporación (negro, café, amarillo) con base a sus parámetros fisicoquímicos (pH, textura, materia orgánica, etc), en donde se escogen los dos suelos que mayor difieran entre ellos. Para estos dos suelos se harán ensayos con 8 repeticiones comprobando si hay diferencias significativas en los resultados obtenidos. Mientras que el **tercer ensayo** se realizó con un solo tipo de suelo analizando la solución en SFA en un tiempo 0 y luego de 15 días del primer análisis.

Extracción de nitratos

Tanto en la norma ISO 14256-2 como en la guía de L. A. Richards se sugiere que la extracción de nitratos se realice en una relación de 1:5 (peso/volumen) suelo - solución de extracción, por lo que se establece una cantidad de 5 gramos de muestra de suelo, haciendo una **réplica** para cada muestra en el primer y tercer ensayo. Esta cantidad de suelo es pesada en Erlenmeyers de 125mL con Balanza Analítica CP225D Sartorius, a los cuales se añaden 25 mL de la solución de KCl 1M o de agua según corresponda, para después ser llevados a agitación de 150 rpm durante una hora en un Orbital Shaker Lab-Line (*Anexo 1*) [18].

Posterior al proceso de agitación, se lleva el sobrenadante de cada Erlenmeyer a un proceso de centrifugación por 10 minutos en Centrifuga RESTEK Q-sep™ 3000, donde por último el sobrenadante es filtrado con un Sistema de filtrado aséptico de polisulfona KP - 47S, empleando papel de filtro Sartorius de 0.45 micras y en caso de observar material particulado, coloración o turbidez en el sobrenadante resultante del centrifugado, este se filtrará con filtros de microfibra de vidrio de borosilicato Whatman Grade 934-AH especiales para sólidos o con el mismo papel filtro de 0.45 micras según sea el caso [16]. Con el filtrado del sobrenadante ya obtenemos la solución que será leída en el equipo SFA.

Procesamiento de muestras en SFA

Antes de la lectura de las muestras, es esencial garantizar el correcto funcionamiento del equipo SFA SAN⁺⁺®, en donde se establezca la configuración adecuada para la cuantificación de nitratos, también se observe que todas las mangueras y empates estén conectados fijamente y además se asegure de contar con los reactivos requeridos para generar la reacción química de interés en la formación del tinte azo rojo (leído a una longitud de onda de 540nm), entre los cuales se encuentra imidazol, cloruro de amonio, Brij 35, NEDD y sulfanilamida [9].

Una vez establecidas todas las condiciones de operación del equipo, se debe encender el auto muestreador, unidad química e interfase. Además, es necesario encender la unidad de presión, digestor UV y abrir la válvula de la columna de cadmio. En el momento de encendidas y configuradas todas las unidades del equipo, los reactivos fluyen a través de la unidad química por medio de mangueras de distintos diámetros que permiten el paso de la muestra y de los reactivos, en donde se debe tener un flujo segmentado por burbujas de manera estable para no generar fallos en la lectura del software.

Dentro de la lectura de los resultados en el software es importante visualizar una línea base para comprobar la estabilidad del equipo, dando paso a la lectura de las muestras incorporadas en el auto muestreador, donde los primeros espacios del muestreador serán destinados a los estándares de la curva de calibración (0.4 – 2mg/L), continuando con los controles de verificación (ICV, CCV, adiciones con Material de Referencia Certificado para nitratos) y finalmente se añaden todas las muestras resultantes de la extracción de cada tipo de suelo.

Debido a que la curva de calibración mencionada está en un rango definido en la guía de operación de SFA para muestras de aguas, se deberán hacer diluciones a las muestras que presenten concentraciones fueran del rango de lectura. Dicha curva de calibración para analizar nitratos en muestras de agua fue seleccionada por la poca diferencia de rangos con respecto a la curva sugerida para lecturas de nutrientes en suelo (0.1 - 10mg NO₃/L), suponiendo que sería más eficaz la implementación de únicamente esta curva de rango bajo (0.4 – 2mg/L), en donde las soluciones provenientes de muestras de suelo que estuvieran fueran del rango de lectura se diluyeran de tal manera que los datos ingresaran en el rango de la curva de calibración y de esta forma analizar nitratos en muestras aguas y suelos en el mismo ensayo con SFA.

Procesamiento de datos

De acuerdo con los resultados de las concentraciones obtenidas en el software del Analizador SFA se determina la fracción másica (mg NO₃/kg suelo) según las cantidades de suelo y de solución de extracción utilizadas en el análisis. Esta fracción es calculada empleando la siguiente formula:

$$X_{NO_3^-} \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{Conc. NO_3^- \left(\frac{mg}{L} \right) * Volumen de agua o KCl (L)}{Peso del suelo seco empleado (kg)} \quad (Ec. 1) \quad [16][17]$$

La ecuación anteriormente expresada es extraída de la Norma ISO 14256-2 [16], sin embargo, esta es simplificada omitiendo los términos de corrección de humedad y de la muestra blanco, debido a que L.A. Richards en la guía de “Diagnóstico y mejoramiento de suelos salinos y alcalinos” sugiere no tener en cuenta la humedad de la muestra cuando la extracción se ha realizado en una relación de 1:5 o mayor, es decir que esta condición aplica para el caso del proyecto [17].

Ensayo N°1. Evaluación de concentraciones de nitratos con extracción en tiempo 0 y luego de 15 días de tomada la muestra de suelo.

Los resultados de esta prueba son recopilados según las fracciones másicas obtenidas para cada muestra de suelo, en donde se realice una comparación de los valores en el tiempo 0 y en el tiempo de 15 días para observar si existen o no cambios significativos en las fracciones, es decir que la diferencia relativa (%RPD) entre las fracciones de cada muestra no supere un 20% según los criterios de aceptación de resultados en el laboratorio de suelos. De esta forma determinar el tiempo en el que puede ser procesada una muestra de suelo luego de entrar al laboratorio sin sufrir alteraciones en las cantidades de nitratos.

Ensayo N°2. Evaluación de las dos metodologías de extracción

Con las fracciones másicas calculadas de los dos tipos de suelo seleccionados, se realiza una prueba de t-student de comparación de medias muestrales y una prueba de F-Fisher de comparación de varianzas usando el Aplicativo 'validaR' [19], según la guía de validación de métodos analíticos del Instituto Nacional de Metrología [20], esto con el propósito de verificar si se presentan diferencias significativas entre las dos metodologías empleadas, respondiendo a la pregunta de ¿Los resultados de medición de nitratos cambian si se usan dos protocolos distintos de extracción de la muestra de suelo?.

Dicho análisis se realiza por separado para cada una de las muestras de suelo, ya que en principio se quiere conocer cuál de las dos metodologías presenta un mejor comportamiento en la extracción y cuantificación de nitratos, mientras que en un segundo momento se compararan los resultados de ambas muestras de suelo para conocer si los resultados de la primera muestra difieren a la segunda.

Ensayo N°3. Evaluación de tiempo de almacenamiento de solución extraída

Para una de las muestras de suelo se realiza el debido proceso de preparación y extracción de la muestra para procesar por duplicado en SFA el mismo día de la extracción y refrigerando la solución resultante durante 15 días para luego volver a analizarla en el equipo y hacer una comparación de las diferencias relativas de las fracciones másicas resultantes en ambos tiempos de análisis.

II. RESULTADOS

Inicialmente en el procesamiento de las muestras en el equipo SFA se evidenció que la lectura en el software para algunas de las muestras estaba fuera de la curva de calibración sugerida para muestras de agua, sin embargo, esto no fue un impedimento para la cuantificación de nitratos, ya que estas soluciones que se mostraban fueran del rango de la curva empleada se diluyeron en relaciones de 1-5 y 1-10 según lo reflejado en la gráfica del software de SFA, generando un dato corregido en base a un factor de dilución. De esta forma todas las muestras procesadas pudieron ser leídas de manera satisfactoria junto con las demás muestras de agua analizadas en el laboratorio.

Ensayo N°1. Evaluación de concentraciones en tiempo 0 y 15 días

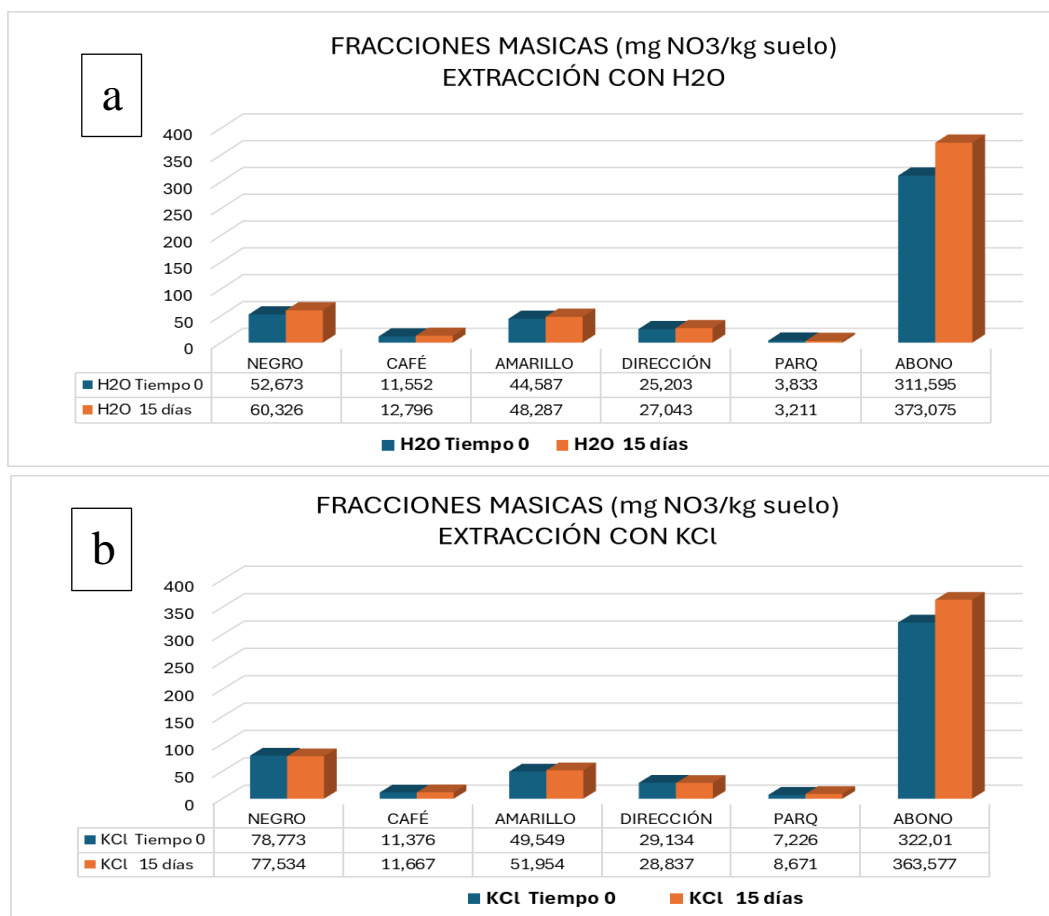


Figura 1. Fracciones másicas de nitratos para los 6 tipos de suelo. **a** Con extracción en agua y un R² de 0.9994. **b** Con extracción en KCl y R² de 0.9997.

En la *Fig. 1* se muestran las fracciones molares (mg NO₃/kg de suelo) obtenidas de los 6 tipos de suelo en el tiempo inicial (tiempo 0) y luego de 15 días para la extracción desarrollada con agua destilada y HCl 1M, con correlaciones de R² = 0.9994 para los análisis realizados en el tiempo

0 y de 0.9997 para los análisis en el tiempo de 15 días, en donde ambos valores son muy cercanos a 1, lo cual hace parte de la confiabilidad de los resultados obtenidos que están ligados a los controles de cada ensayo y en este caso particular a la curva de calibración empleada en cada prueba con SFA. Por otro lado, ambos diagramas muestran fracciones másicas que se encuentra alrededor de los valores identificados en distintos suelos del trópico, siendo esto un indicativo de la aceptación de los datos obtenidos en este primer ensayo. Observando también que el rango de valores para cada uno de los 6 tipos de suelo se encuentra bien definido entre ambas metodologías, revelando una correcta funcionalidad del equipo y del modelo empleado en el proceso.

Además, en la *Fig. 2* se presentan los porcentajes de diferencia relativa (%RPD) determinados a partir de los valores para los 6 tipos de suelo analizados por duplicado, en donde el %RPD es el parámetro que indica si los valores son aceptables, siendo el 20% el porcentaje máximo permitido para que el resultado pueda ser aceptado dentro de los análisis de suelos.

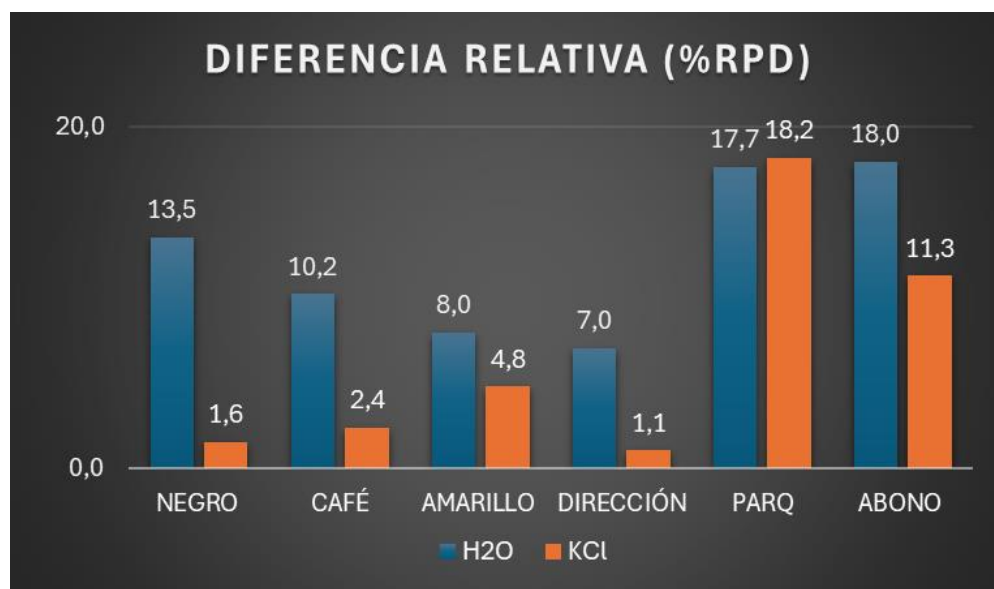


Figura 2. Porcentajes de diferencia relativa (%RPD) de las fracciones másicas resultantes de la extracción con agua y KCl para los 6 tipos de suelos analizados por duplicado

Ensayo N°2. Evaluación de las dos metodologías de extracción

La *Tabla 1* recopila los parámetros fisicoquímicos de cada uno de los tres suelos inicialmente analizados en el ensayo N°1, los cuales se encontraban en la corporación y presentaban una caracterización previa. A partir de estos parámetros se decidió seleccionar el suelo negro y café para realizar el ensayo N°2 de evaluación de las metodologías de extracción, esto debido a las diferencias notorias que presentan ambos suelos en cuanto a su % de materia orgánica,

calcio intercambiable y textura, siendo estos parámetros determinantes en las cantidades presentes de nitratos en el suelo, en donde un alto porcentaje de materia orgánica y fósforo generan una mayor presencia del nitrógeno mineral del suelo.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de los suelos negro, café y amarillo

SUELO	pH	%Humedad	Textura	%Materia Orgánica	Fósforo Disponible	Capacidad de int. Catiónico (cmol/100g)	Ca. Intercambiable (cmol/kg)
Negro	5.85	54	Arenoso (Arena 93%, Limo 7%, Arcilla 0%)	39.13	10.11	30.77	0.47
Café	5.53	31.37	Franco limoso (Arena 0%, Limo 77%, Arcilla 23%)	14.29	4.23	9.57	4.67
Amarillo	5.45	30.77	Arenoso (Arena 60%, Limo 21%, Arcilla 19%)	16.67	4.23	10.61	2.15

Luego de seleccionar los dos suelos, se realizó el respectivo análisis de nitratos para 8 muestras de cada suelo implementando las dos metodologías definidas previamente.

Las concentraciones obtenidas del análisis de nitratos en SFA (*Anexo 2*) se convierten en fracciones másicas con la *Ec. (1)* descrita en la metodología. Dichas fracciones másicas de nitratos resultantes de este ensayo N°2 se pueden observar en la *Tabla 2*, donde se pueden identificar los valores para el suelo negro y café con extracción en KCl y agua.

Tabla 2. Fracciones másicas de nitratos en los suelos negro y café para las metodologías de extracción con agua y KCl.

N° Replica	FRACCIONES MASICAS (mg NO ₃ / kg de suelo)			
	SUELO NEGRO		SUELO CAFÉ	
	H ₂ O	KCl	H ₂ O	KCl
1	68.240	79.724	14.897	13.565
2	71.613	87.922	19.443	10.084
3	73.682	79.693	11.139	10.201
4	72.258	77.494	9.921	9.084
5	70.602	83.439	10.217	10.359
6	68.403	84.129	10.063	10.594
7	69.360	82.678	9.693	11.281
8	70.837	90.511	10.366	11.087

Cabe destacar que tanto el ensayo N°1 y 2 se realizaron con la curva de calibración para muestras de agua que se encuentra definida en la guía de operación del equipo SFA, por lo que se requirió hacer diluciones de 1/5 y 1/10 en todos los suelos analizados excepto en el suelo café.

Además, en ambos ensayos se realizaron las respectivas adiciones o matrices fortificadas a cada muestra con una concentración de 0.9 mg/L de solución estándar de nitratos, observando recuperaciones entre el 86 y 99% (*Anexo 3*).

Posteriormente, los datos de fracciones másicas (*Tabla 2*) fueron tratados en la aplicación web del instituto de metrología de Colombia ValidaR [19], en donde se realiza una comparación de medias con la prueba de t-Student para dos muestras estadísticas con distribución normal entre los datos obtenidos únicamente en el suelo negro, además de la prueba de t-student también se realiza una comparación de varianzas con una prueba F-Fisher. Ambas pruebas se realizan de igual manera para los grupos de datos obtenidos de las metodologías de extracción en el suelo café. La prueba t-Student y F-Fisher se realizaron con una hipótesis nula (H_0) de $\mu_{H2O} = \mu_{KCl}$ y $\sigma_{H2O} = \sigma_{KCl}$ respectivamente. Por otro lado, la hipótesis alternativa (H_1) es $\mu_{H2O} \neq \mu_{KCl}$ para la prueba de medias t-Student y $\sigma_{H2O} \neq \sigma_{KCl}$ para la prueba de varianzas F-Fisher.

Luego del tratamiento de los datos en la aplicación web validaR, en donde la prueba de t-Student para el suelo negro mostró que, si hay una diferencia estadísticamente significativa en las medias muestrales de cada grupo de datos de fracciones másicas, mientras que la misma prueba en el suelo café reveló que no existe una diferencia significativa entre ambos grupos de datos. Por otro lado, en la *Fig. 3* se puede ver los resultados de la prueba de Fisher realizada a los datos resultantes de ambos suelos.

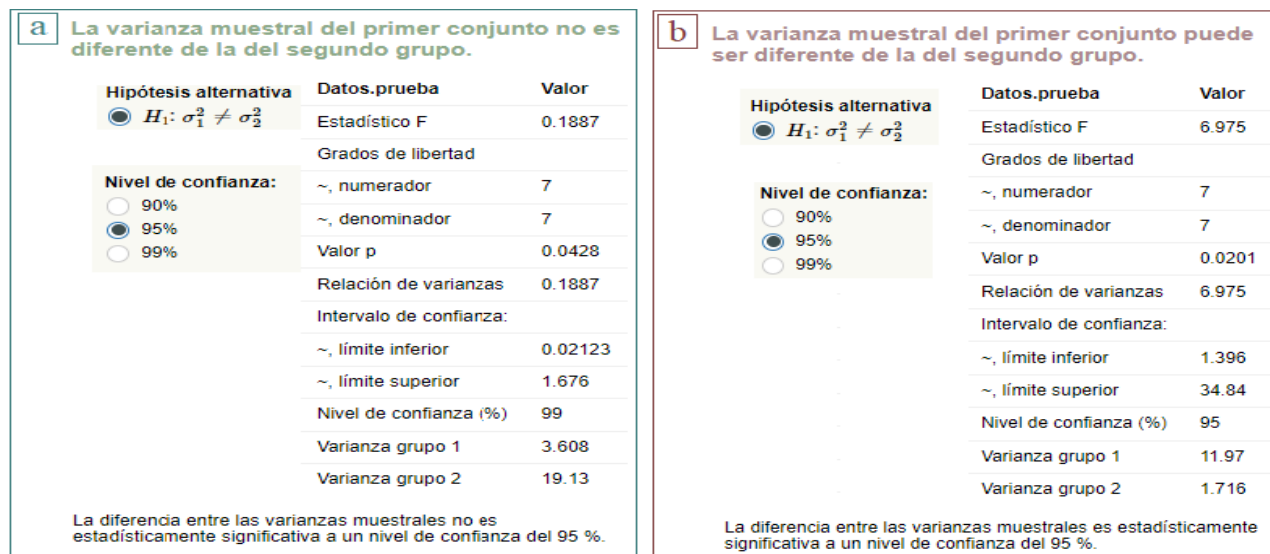


Figura 3. Resultados de la prueba de varianzas F-fisher, a) para el suelo negro y b) para el suelo café.

Donde $\sigma_{H2O} = \sigma_1$ y $\sigma_{KCl} = \sigma_2$

Para el caso del suelo negro, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas de las varianzas de ambos grupos de fracciones másicas resultantes de la extracción con agua y con KCl. Mientras que en el suelo café existe una diferencia significativa de las varianzas con una confianza del 95%.

La varianza muestral del primer conjunto puede ser mayor de la del segundo grupo.

Hipótesis alternativa	Datos.prueba	Valor
<input type="radio"/> $H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$	Estadístico F	6.975
<input type="radio"/> $H_1: \sigma_1^2 < \sigma_2^2$	Grados de libertad	
<input checked="" type="radio"/> $H_1: \sigma_1^2 > \sigma_2^2$	~, numerador	7
	~, denominador	7
	Valor p	0.0101
	Relación de varianzas	6.975
	Intervalo de confianza:	
	~, límite inferior	1.842
	~, límite superior	Inf
	Nivel de confianza (%)	95
	Varianza grupo 1	11.97
	Varianza grupo 2	1.716

La diferencia entre las varianzas muestrales es estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95 %.

Figura 4. Datos obtenidos de la prueba de varianzas F-fisher en el suelo café entre ambos grupos de muestras con una hipótesis alternativa (H1) de $\sigma_{H_2O}^2 > \sigma_{KCl}^2$

Ya que en la prueba de varianza para el suelo café se aprobó la hipótesis nula (H_0) en donde ambas varianzas son iguales, se optó por tomar otra hipótesis alternativa ($\sigma_{H_2O}^2 > \sigma_{KCl}^2$) y observar si se continuaba confirmando la hipótesis nula. Los resultados para esta nueva prueba de varianzas se muestran en la *Fig. 4*, en donde ahora los resultados revelan una diferencia estadísticamente significativa entre las varianzas, aprobando la hipótesis alternativa, la cual menciona una varianza mayor del grupo de datos de fracciones másicas obtenidas de la extracción de agua.

Ensayo N°3. Evaluación de tiempo de almacenamiento de solución extraída

Finalmente, la prueba de almacenamiento mostro un porcentaje de diferencia relativa (%RPD) del 5.56% como se observa en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Concentraciones y fracciones másicas resultantes de la prueba de conservación con suelo café

Muestra	Sin refrigerar, tiempo 0		Refrigerada 15 días		%RPD
	Concentración NO ₃ (mg/L)	Frac. Másica (mg NO ₃ /kg)	Concentración NO ₃ (mg/L)	Frac. Másica (mg NO ₃ /kg)	
C1 KCl	2.19	10.96	2.25	11.25	5.56
C2 KCl	2.48	12.40	2.68	13.42	

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la *Fig. 2* se puede observar que ninguno de los porcentajes de diferencia (%RPD) supera el 20% tanto para extracción con agua como con KCl, mostrando cambios que son aceptables dentro del aseguramiento de la validez de los resultados. Sin embargo, de la *Fig. 1* podemos ver que la mayoría de las fracciones de los 6 suelos presentan una tendencia a aumentar su cantidad de nitratos en la matriz, lo que se puede producir por varios factores incluyendo la actividad microbiana, temperatura o humedad, siendo necesario que no se exceda de este tiempo de 15 días para realizar la extracción en la respectiva muestra de suelo, ya que de lo contrario no se podría garantizar un porcentaje menor del 20% y no se estaría haciendo un aseguramiento de la cantidad de nitratos obtenida. Además, es importante notar que los porcentajes de RPD para las extracciones realizadas con KCl son inferiores a los realizados con agua, por lo que en esta primera prueba también suponemos que el KCl tiene una mejor estabilidad y se comporta mejor como solución extractora, sin embargo, esto no es una comprobación definitiva para seleccionar dicha solución.

En una segunda prueba experimental el objetivo es determinar si hay diferencias entre los métodos propuestos de extracción de nitratos con agua y KCl, mediante una prueba de medias muestrales t-student y una prueba de varianzas de F-fisher (*Fig. 3 y 4*), en donde el análisis realizado para el suelo café con una hipótesis alternativa (H1) de $\sigma^2_{H2O} > \sigma^2_{KCl}$ mostró a diferencia de los resultados de las pruebas en el suelo negro que si existen diferencias significativas entre las varianzas de ambos grupos de datos, siendo mayor la dispersión de los datos de las fracciones másicas obtenidas de una extracción con agua, donde lo ideal es que los datos tengan un alto grado de repetibilidad y presenten un rango de valores de sus respectivas concentraciones. Indicando que para muestras de suelo con fracciones másicas más pequeñas hay un mejor comportamiento de la solución de KCl y aunque en el suelo negro evaluado, no haya diferencias en la prueba de F-Fisher, es óptimo utilizar la solución de KCl 1M, ya que puede ser aplicable para una variedad de suelos que puedan llegar al laboratorio ambiental.

Además de esto los porcentajes de diferencia relativa (%RPD) de las fracciones másicas obtenidas en el ensayo N°1 son menores con una extracción de KCl teniendo un promedio de porcentajes de 6.57%, mientras que con agua el promedio es de 12.4%, mostrando otro indicativo de que la interacción de la solución de KCl y la muestra presenta un mejor comportamiento en la extracción de nitratos con respecto a la extracción con agua. Por lo tanto, la solución de KCl permite

obtener valores más acertados en un rango de concentraciones y tipos de suelo que pueda ser recibidos en el laboratorio de suelos.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la prueba de conservación (*Tabla 3*) confirma que las soluciones extraídas de las muestras de suelo pueden ser almacenadas en refrigeración por un tiempo de 15 días sin tener cambios significativos en las cantidades de nitratos, permitiendo que las muestras puedan ser guardadas en caso de presentar alguna dificultad en el desarrollo de un análisis inicial en SFA.

En cuanto a los controles realizados, en primera instancia se pudo observar que la relación R de las curvas de calibración para ambos ensayos son casi de 1, siendo esto una comprobación del ajuste del modelo a los resultados obtenidos en cada una de las pruebas realizadas en SFA, adicional a esto las diluciones de las soluciones extraídas permitieron ajustarse al rango de lectura sugerible para muestras de agua, reflejando así que la implementación de diluciones son una alternativa válida para implementar el mismo ensayo en SFA tanto en aguas como en suelos.

De esta forma el conjunto de controles y adiciones introducidos a los ensayos realizados en SFA son comprobaciones y verificaciones necesarias para darle validez a cada uno de los datos obtenidos en ambos ensayos, en donde es fundamental que los controles se añadan para cada ensayo.

IX. CONCLUSIONES

Ambos métodos de extracción tuvieron un comportamiento adecuado tanto en el proceso de extracción como de cuantificación, ya que ambos presentaron una cercanía en los resultados y una diferencia relativa dentro de los criterios de aceptación de los resultados de la corporación, siendo posible obtener resultados validos en una extracción con agua en caso de ser necesario en el análisis de nitratos en muestras de suelo, teniendo presente que en primera instancia es óptimo realizar la extracción con la solución de KCl 1M.

La diferencia de costos en las dos metodologías empleadas es mínima debido a que los procesos son similares, siendo la solución de extracción la principal diferencia entre los métodos, por lo que dentro de un análisis económico dicha solución sería la única variable a tener en cuenta para determinar la metodología más costo-efectiva en la extracción de nitratos, sin embargo haciendo esta comparativa entre los costos de la solución, podemos notar que utilizando la solución de KCl los costos seguirían siendo muy bajos, por lo que es indiferente usar una u otra solución de extracción analizando únicamente la parte económica del proyecto.

De esta manera es preciso afirmar que la metodología de extracción con KCl es óptima para desarrollar un análisis de nitratos en muestras de suelo dentro de la corporación, en donde la extracción de cada muestra de suelo tiene que ser realizada en un límite máximo de 10-15 días desde la recolección de la muestra y teniendo la opción de refrigerar la solución extraída hasta 48 horas luego de la extracción sin presentar cambios significativos en las cantidades de nitratos, de tal forma que las muestras de agua y suelo puedan manejar los mismos tiempos de almacenamiento.

Finalmente es necesario agregar que el rango de calibración para muestras de aguas aplicado a soluciones extraídas de suelos no fue un limitante en la cuantificación de nitratos, ya que el software del equipo integra la opción para incluir un factor de dilución en la lista de muestras analizadas en cada uno de los ensayos, lo cual es favorable para lograr la cuantificación de nitratos en muestras de agua como en soluciones extraídas de muestras suelo, permitiendo el ahorro de tiempo en los análisis desarrollados con SFA en las muestras ingresadas en el laboratorio. Siendo también útil el empleo de controles, ya que funcionan para la verificación del ensayo y el respaldo los datos obtenidos en la prueba, destacando los porcentajes de recuperación obtenidos de las matrices fortificadas empleadas para cada tipo de suelo (*Anexo 3*), comprobando así la funcionalidad del método en la determinación de las concentraciones de nitratos sin la presencia de interferencias que afecten su correcto desarrollo.

REFERENCIAS

- [1] Cornare, Laboratorio Ambiental. Extraído de: <https://lc.cx/Ula0i7>
- [2] Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE. “Uso, cobertura y tenencia del suelo, 3er Censo Nacional Agropecuario 2014”. Ministerio de agricultura. Disponible en: <https://lc.cx/9oY7UT>
- [3] A. Iturri, N. Kloster y M. Díaz-Zorita. “Claves para la toma de muestras de suelos para el análisis de N-Nitratos. Facultad de Agronomía”. Universidad de Nacional de La Pampa, 2021. Disponible en: <https://lc.cx/6bCbhM>
- [4] Sánchez, J. “Fertilidad del suelo y nutrición mineral de plantas – Conceptos Básicos”. FERTITEC S.A, enero. 2007. <https://lc.cx/C68ouy>
- [5] Aguilar, R. Murillo, B. Benson, M. López, E y Meza, G. “Manual de Análisis Químicos de suelos”, Editorial Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C, La Paz, B.C.S. México, 2002. Disponible en: <https://lc.cx/5mxh-w>
- [6] Azcarate, M. Baglioni, M. Brambilla, C. Brambilla, E. Fernandez, R. Kloster, N & Savio, M. “Métodos de análisis e implementación de Calidad en el Laboratorio de Suelos”, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2017. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/68416>
- [7] Calvano, F y Fontalvo, H. “El uso del suelo, ¿Un problema de capacidad productiva y de políticas públicas?”. Revista Logos, Ciencia & Tecnología, 2014, vol. 5, n° 2, p. 213-231. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5177/517751549002.pdf>
- [8] E.C. Molina, et al. “Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar”. Revista de la sociedad Química de México, 2003, vol. 47, n°1, p. 88-92. Extraído de: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v47n1/v47n1a14.pdf>
- [9] S. Becker, M. Aoyama, E. Woodward, K. Bakker, S. Coverly, C. Mahaffey y T. Tanhua, “Manual de nutrientes de hidrografía repetida de GO-SHIP: determinación precisa y exacta de nutrientes inorgánicos disueltos en agua de mar, utilizando métodos de análisis de flujo continuo”, Fronteras en ciencias marinas, Vol.7, 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.581790>
- [10] J.C. Pérez, G. Arango. “Determinación de nitratos y amonio en muestras de suelo mediante el uso de electrodos selectivos”, Rev. Facultad Nacional de Agronomía - Medellín, Vol.58, N°.1, jun. 2005. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179914238011>

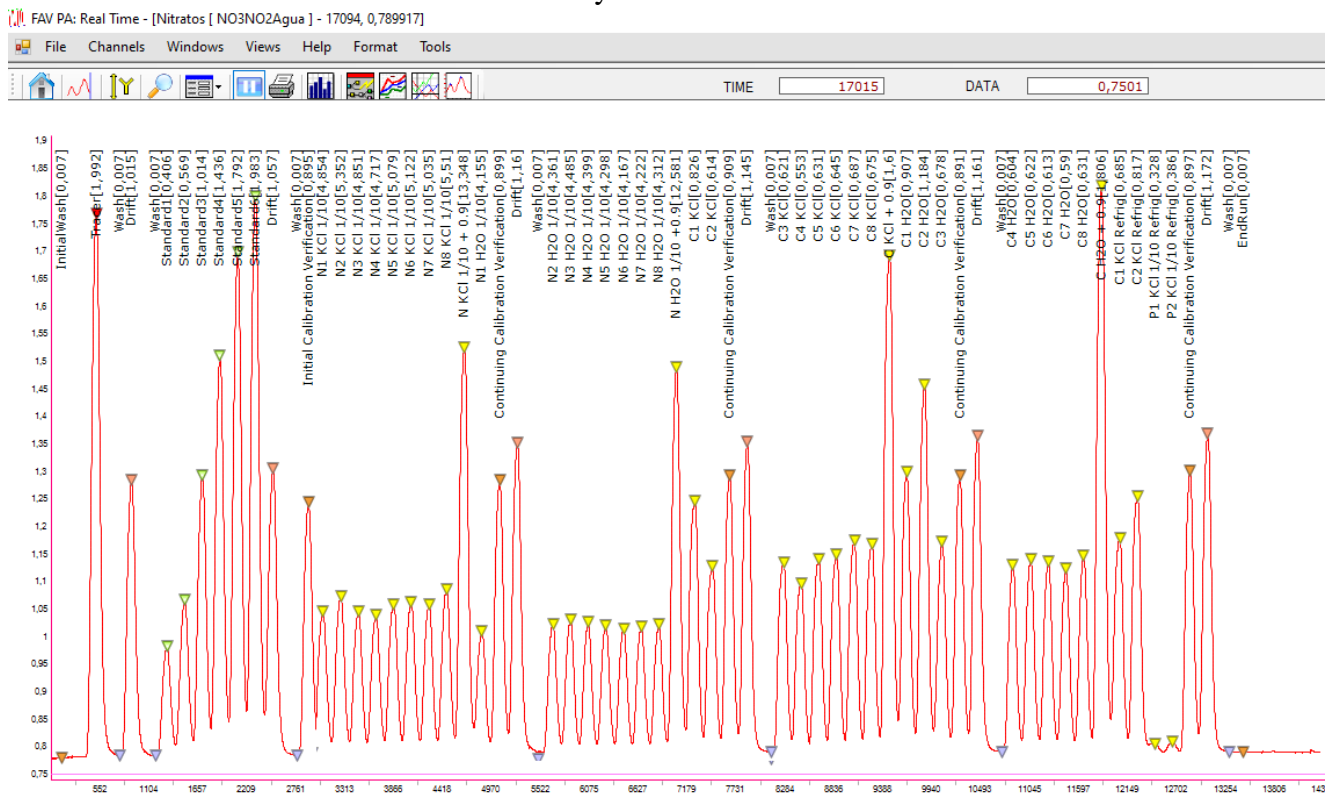
- [11] Kmecl, V., Sušin, J. & Zupančič-Kralj, L. “*Validation of analytical methods used for determination of nitrate in soil*”. Accreditation and quality assurance, vol. 10, pp. 172-176, 2005. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00769-005-0914-6>
- [12] E. Brambilla, N. Kloster, A. Bono y J. Camiña. “*Evaluación de Métodos para determinar nitrato en suelo*”. Asociación Argentina de Ciencia del Suelo, vol. 31, n°2, pp. 245-252, 2013. Extraído de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/cds/v31n2/v31n2a10.pdf>
- [13] SKALAR. *Brochure: San⁺⁺. Analizador de Flujo Continuo*, 2016. <https://www.skalar.com/es/analizadores/san-analizador-de-flujo-continuo>
- [14] N, Osorio. “*Manejo de nutrientes en suelos del trópico*”. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 2014, pp.179 – 185.
- [15] P. Barros, I. Silva, L. Lima, H. Pinheiro, H. Lima, H. Fonseca, V. Mouchrek y R. Nunes. “*An approach of the historical aspects, the advantages, and disadvantages of automated analyzers: Analysis in segmented flow (SFA) the Flow Analyzer – batch (FBA)*”. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, vol. 7, n°10, pp. 901-906, 2015. Disponible en: <https://lc.cx/lbp2kB>
- [16] International Standard ISO 14256-2. “*Soil Quality – Determination of nitrate, nitrite, and ammonium in field – moist soils by extraction with potassium chloride solution. Part 2: Automated method with segmented flow analysis*”, 2005. Disponible en: <https://lc.cx/i16Ic6>
- [17] L.A. Richards. “*Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils*”, Agricultural Handbook N°60, pp. 83-85, 2014. Disponible en: https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/20360500/hb60_pdf/hb60complete.pdf
- [18] Icontec - Norma Técnica Colombiana Icontec NTC 5595 Calidad de suelo. “*Determinación del nitrógeno amoniacal y nitrógeno nítrico*”, 2008. Disponible en: <https://lc.cx/rUM6SZ>
- [19] INM. *Aplicativo validaR. Herramienta para la validación de métodos analíticos*. Disponible en: <https://validar.inm.gov.co/validaR/>
- [20] *Validación de Métodos en Análisis Químico Cuantitativo, 1ª ed.* Instituto Nacional de Metrología-GQSP, 2023, pp. 16-21. Disponible en: https://lc.cx/l3cW_9

ANEXOS

Anexo 1. Proceso de agitación de muestras en Orbital Shaker Lab-Line



Anexo 2. Diagrama de concentraciones de nitrógeno obtenidas del software en SFA, empleando curva de calibración y controles de verificación.



Anexo 3.

Recuperaciones obtenidas en el ensayo N°2 para el suelo negro y café determinadas a partir de la adición de una concentración de 0.9 mg NO₃/L de estándar de nitratos. Los valores empleados son presentados en el diagrama anterior (*Anexo 2*) correspondientes a N KCl 1/10 + 0.9, N H₂O 1/10 + 0.9, C KCl + 0.9 y C H₂O + 0.9, en donde las muestras de suelo negro fueron procesadas en SFA con un factor de dilución de 10.

Muestra	Concentración inicial (mg NO ₃ /L)	Concentración final (mg NO ₃ /L) + 0.9 mg NO ₃ /L	Porcentaje de recuperación (%)
N1 KCl (1/10)	4,854	13,348	89,6
N1 H ₂ O (1/10)	4,155	12,581	86,2
C1 KCl	0,826	1,61	86,0
C1 H ₂ O	0,907	1,806	99,9