

Francisco José Sarmiento García

**COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
CATIONES EN TIERRAS: $\text{CH}_3\text{COO-NH}_4$ Y MEHLICH-3**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado de Química

Dirigido por la Dra. M^a Carme Masqué Tell



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

TARRAGONA

2016

Índice

1. Abstract	5
2. Introducción	7
3. Objetivos	12
4. Fundamentos	13
5. Parte experimental	16
6. Resultados y discusión	25
7. Alternativas aplicadas	41
8. Conclusiones	43
9. Bibliografía	44

1. Abstract

The determination of exchangeable cations found in soil samples gives us valuable information about the fertility of the ground to help us improve the quality of our crops. The purpose of this paper is to search and select a different extracting methodology to put it to a test against the current ammonium acetate method. Nine different soil samples were studied in this comparison and the results told us the methods are fairly similar in 3 out of 4 cations. We explain the reason behind this problem and try to circumvent it by thinking and applying variations to the currently tested method and see how they fare against it. Even with it showing promise, more work has to be done to find a solution to this problem.

2. Introducción

L'Institut Català de la Vinya i el Vi (INCAVI) es una institución perteneciente al Departamento de Agricultura, Ganadería, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente de la Generalitat de Catalunya. Está formada por dos estaciones enológicas, una situada en Vilafranca del Penedès y la segunda y más antigua, donde he realizado mi labor de desarrollar este trabajo, situada en Reus.

INCAVI pretende ser la infraestructura más especializada de la Generalitat de Catalunya puesta al servicio de la industria vitivinícola, colaborando de esta forma al posicionamiento en los mercados, tanto nacional como internacional, de los vinos de la comunidad. De igual forma, INCAVI tiene interés en que el sector considere las estaciones enológicas como un laboratorio que colabora en las actividades de investigación, desarrollo y experimentación, haciendo posible la innovación continuada como presentación y valor añadido en el desarrollo comercial de sus productos.

Entre sus muchas funciones se encuentra la de la realización de análisis de tierras, foliares, vinos y derivados y la expedición de su pertinente informe certificado. Dentro del trabajo respecto a las tierras, se encuentra la determinación de la cal activa, textura, pH, conductividad, materia orgánica, nitrógeno total e intercambio de cationes. En el caso de este trabajo, nos centraremos en la determinación de los cationes.

El principal inconveniente de esta determinación es su largo tiempo de preparación, así pues, el enfoque se realizó con la mejora de este parámetro en mente, intentando mantener siempre la misma eficacia del método actualmente en funcionamiento. Para realizar esta mejora, se utilizará un método diferente del actual y realizaremos de forma paralela la determinación de diferentes tierras con los dos métodos, cuyos resultados se encuentran ya actualmente validados.

Diferentes métodos se tuvieron en cuenta a la hora de elegir el utilizado en este trabajo. En primera instancia, se intentó comprobar la viabilidad de 2 reactivos a la hora de ejecutar la función de solución extractora: el complejo de cloruro de hexamino cobalto (III) y la sal de cloruro de bario (II). El problema existente con estos dos reactivos era que el primero es excesivamente caro para su uso en un laboratorio no enfocado puramente a la investigación y el segundo es que es tóxico, por lo tanto aumentaba la complejidad del procedimiento respecto al actual [1].

Durante una segunda búsqueda, encontramos un método utilizado en la zona del sudeste de Estados Unidos que fue desarrollado en los años 60 y 70 por el Dr. Adolf Mehlich. El Dr. Mehlich trabajó como profesor en la Universidad de Carolina del Norte además de realizar funciones de consultoría para el Departamento de Agricultura del estado de Carolina del Norte. Durante el desarrollo de sus funciones, inventó diversos procedimientos para la extracción de cationes de tierras. Los más conocidos son el Mehlich-1 y el Mehlich-3. El primero fue específicamente desarrollado para ajustarse a las características del terreno de la zona en su tiempo, que en este caso era de pH inferiores a 7. Durante esa época, la explotación del suelo y el exceso en la utilización de abono resultó en una basificación progresiva de la tierra [2].

El Dr. Mehlich desarrollo dos métodos más para ajustarse a la nueva realidad de la tierra. El Mehlich-2 resultó ser muy poco eficaz debido a su corrosividad a causa de las concentraciones de ácido que contenía, por lo que fue descartado casi al instante. El Mehlich-3 fue creado teniendo en mente que su funcionamiento tendría que ser útil para todo rango de pH al que nos podemos encontrar suelos (entre 5 y 9, soliendo estar la mayoría en el entorno de 7-8). Además, su utilidad no solo se limita a cationes alcalino y alcalinotérreos, sino que es capaz de extraer también metales pesados y fósforo convirtiéndolo así en una solución extractora universal.

Los cationes de Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} junto con NH_4^+ , H^+ y algunos metales pesados, son los que producen el intercambio iónico en tierras. Este intercambio se define como el conjunto de procesos reversibles en los que las partículas sólidas de la tierra adsorben iones de la fase acuosa, liberando de esta forma otros iones en cantidades equivalentes, estableciendo así un equilibrio entre las dos fases.

El intercambio iónico se puede producir por efectos electrostáticos o por la presencia de gradientes de concentración. También se puede establecer este equilibrio entre dos sólidos, cómo puede ser entre la Tierra y el abono rico en nutrientes utilizado como fertilizante. De esta forma conseguimos que los nutrientes puedan llegar a las raíces de los cultivos a través de la tierra.

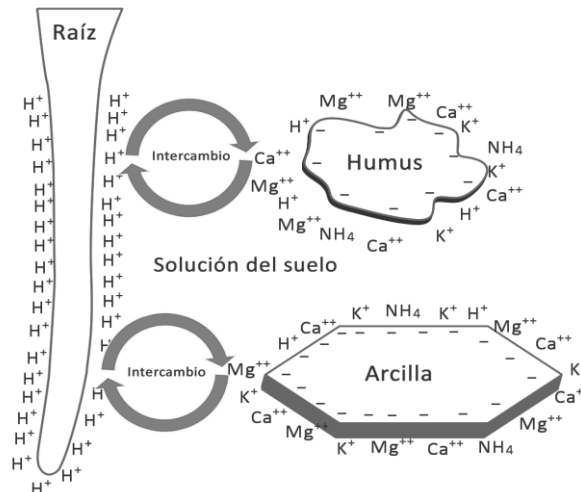


Figura 1. Proceso de intercambio iónico

Teniendo en cuenta el concepto de intercambio iónico, existe el parámetro conocido como capacidad de intercambio catiónico (CIC), qué es la capacidad que tiene un suelo para retener y liberar iones positivos, gracias a su contenido en arcilla y materia orgánica. Las arcillas están cargadas negativamente, por lo que suelos con mayores concentraciones de arcillas exhiben capacidades de intercambio catiónico mayores. A mayor contenido de materia orgánica en un suelo aumenta su CIC. Conocer la capacidad de intercambio catiónico de un suelo es fundamental, pues este valor nos indica el potencial de un suelo para retener e intercambiar nutrientes además de afectar directamente a la cantidad y frecuencia de aplicación de fertilizante y también la capacidad de proteger las aguas subterráneas de ser contaminada con los cationes.

La capacidad de intercambio catiónico varía dependiendo del tipo de suelo. Humus, el producto final de la materia orgánica descompuesta, tiene el valor de CIC más grande posible, pues los coloides de materia orgánica disponen de grandes cantidades de cargas negativas. La arcilla también dispone de una gran capacidad para atraer y retener cationes debido a su estructura, pero aun así, no será capaz de llegar a niveles como los del Humus. Además, los valores de CIC varían dependiendo del tipo de arcilla. La arcilla Montmorillonita dispone de los valores más altos dentro de las arcillas, mientras que la Caolinita dispone de los valores más bajos.

Tabla 1. Valores de CIC en suelos.

Material	CIC (meq/100g)
Arcillas	
Caolinita	3-15
Illita	15-40
Montmorillonita	80-100
Materia Orgánica	100-200
Textura del suelo	
Arena	1-5
Franco arenoso	5-10
Franco	5-15
Franco arcilloso	15-30
Arcilloso	>30

Otra característica de los suelos arcillosos es que cuando el sodio intercambiable presente está en una cantidad superior al 5% de toda la CIC hace que las partículas de arcilla se vuelvan inestables en agua de lluvia. La arena, en cambio, no tiene capacidad para el intercambio de cationes al no tener carga eléctrica. Esto significa que suelos arenosos disponen de un valor de CIC muy bajo [3].

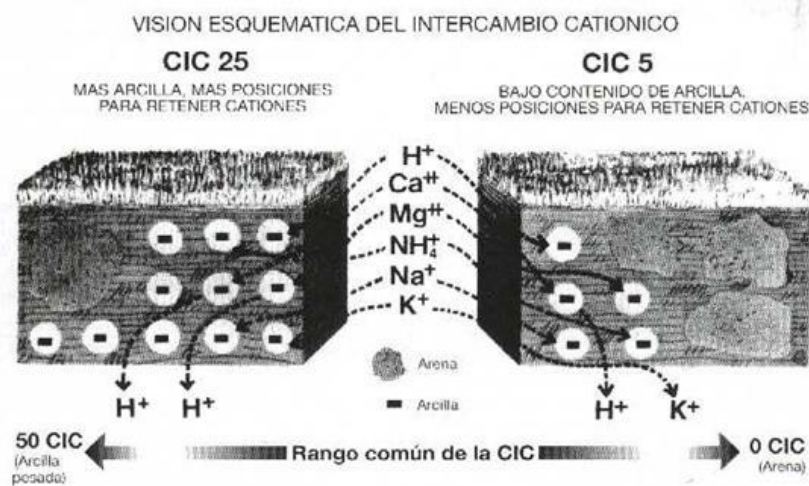


Figura 2. Visión esquemática del intercambio catiónico

Relacionado con la capacidad de intercambio de cationes, se encuentra la saturación base, que indica la fracción de cationes intercambiables que son de Ca, Mg, K y Na. Como mayor sea el número de cationes intercambiables presentes, mayor cantidad de acidez se puede neutralizar con perspectivas a corto plazo (como puede ser el recuperar el pH natural después de una lluvia). Sin embargo, si los cultivos o el lixiviado han removido la mayor parte de los cationes menos

ácidos, el suelo está bajo saturación de bases o alto en saturación ácida. Las cantidades totales de cationes ácidos relativas a la CIC son una medida de la saturación ácida. Ésta también es una medida de las necesidades de encalado de un suelo (aplicar cal).

Tabla 2. Intervalos normales de valores de CIC para colores/texturas comunes de suelos

Tipo de Suelo	CIC (meq/100g)
Arenas color claro	3-5
Arenas color oscuro	10-20
Marga de limo claro	10-20
Marga de limo oscuro	15-25
Marga arcillosa	30-40
Suelos orgánicos	50-100

Tabla 3. Saturación base aproximada para suelos Caolíticos

pH del Suelo	Saturación base (%)
3.9	0
4.5	0
5.3	25
6.2	50
7.1	75
7.5	90
8.0	100

La implicación del método respecto a los aspectos medioambientales, es prácticamente inapreciable. Mediante el método del Mehlich-3, se generan menos residuos y se gasta menos volumen de solvente, pero a su vez, tales residuos son más peligrosos y dañinos para la natura. En cuanto al aspecto social, la implicación es nula, pues no es de interés para el ciudadano común.

3. Objetivos

- Búsqueda de métodos para la determinación de cationes en tierras mediante espectroscopia de absorción y emisión atómica que mejoren los resultados obtenidos por el método del acetato de amonio o que mejore el procedimiento manteniendo la efectividad de los resultados.
- Aplicar el método escogido en la búsqueda anterior y comparar los resultados obtenidos con generados por el método del acetato de amonio.
- Realizar cambios, si es necesario, al método escogido para mejorar su efectividad respecto a las características que buscamos en la solución extractora.

4. Fundamentos

4.1. Extracción con acetato de amonio a pH 7

El método del acetato de amonio se basa en el intercambio de cationes adsorbidos en la tierra por iones amonio provenientes de la solución de NH_4Ac 1 M a pH 7. Al encontrarse los iones NH_4^+ en una concentración muy superior a la de los cationes que queremos analizar, se produce un gradiente de concentración, causando una saturación en la superficie de las partículas de tierra.

De esta forma, para intentar recuperar el equilibrio con el medio, la tierra liberará cationes que se encontraban retenidos para hacer espacio a los iones amonio que adsorberá. Gracias a este proceso, la solución pasará a tener de forma libre los cationes y estarán disponibles para ser analizados.

Otra cosa más a comentar, es que la solución una vez completa la extracción, se filtra para eliminar cualquier rastro de tierra y se utilizará, para la determinación de cationes, la técnica de la espectroscopia atómica de absorción (en el caso de calcio y magnesio) o de emisión (en el caso del sodio y potasio).

4.2. Extracción con Mehlich-3

La solución extractora universal Mehlich-3 está formada por una combinación de 5 efectivos:

- Nitrato de amonio
- Fluoruro de amonio
- EDTA
- Ácido acético
- Ácido nítrico

Como en el caso del método del acetato de amonio, esta solución utiliza el amonio para el intercambio catiónico. La diferencia reside en la utilización del ion fluoruro para extraer el fósforo que se encuentra enlazado con el hierro y aluminio presentes en la tierra. Además, el EDTA se utiliza para extraer los cationes de los metales pesados existentes en el suelo. La función de los dos ácidos en este caso es para reducir el pH a un valor de 2,5 ya que intentamos evitar que se produzca

una precipitación del calcio extraído en forma de fluoruro de calcio, que ocurre a pH superiores a 3.

Una característica peculiar es la necesidad de utilizar recipientes de plástico para contener y guardar la solución extractora y también para guardar la muestra una vez realizada la extracción y filtración. Esto se debe a que la mayoría de recipientes de vidrio pyrex (vidrio de borosilicato) contienen óxidos de sodio aunque sea en una pequeña proporción. Esto no quiere decir que no se pueda utilizar material de vidrio a la hora de preparar la solución como pueden ser pipetas, matraces aforados o embudos, solo hay que tener cuidado de que el contacto de la solución con vidrio sea durante el mínimo tiempo posible. Aun así, para evitar incertidumbres, se recomienda trabajar con material 100% de plástico/polimérico. Cualquier recipiente hecho de los polímeros llamados *commodity* nos puede servir para el procedimiento.

4.3 Espectroscopia de absorción atómica

La espectroscopia de absorción atómica es un método para la detección y determinación de elementos químicos, particularmente metales. En esta técnica, los compuestos a determinar, son sometidos a una excitación para favorecer la ruptura de la molécula en los átomos que la forman. Es un método que se basa en el principio de que los átomos libres en estado fundamental pueden absorber luz a una cierta longitud de onda. Esta absorción es específica, por lo tanto, cada elemento absorbe a longitudes de onda únicas.

Este proceso se realiza mediante la nebulización de la solución en una llama a altas temperaturas donde el compuesto es atomizado. En ese instante, a su vez los átomos son irradiados por un haz de luz de longitud de onda específica para el elemento que se quiere determinar. Este haz de luz continuará su camino hasta llegar primero al monocromador, que nos permitirá reducir el intervalo de la longitud de onda del haz de luz.

A continuación, la luz continua su camino desde el monocromador al detector donde nos dará un valor de señal partir de la cual se podrá medir la energía absorbida, y a su vez, conocer la cantidad de átomos presentes en la muestra.

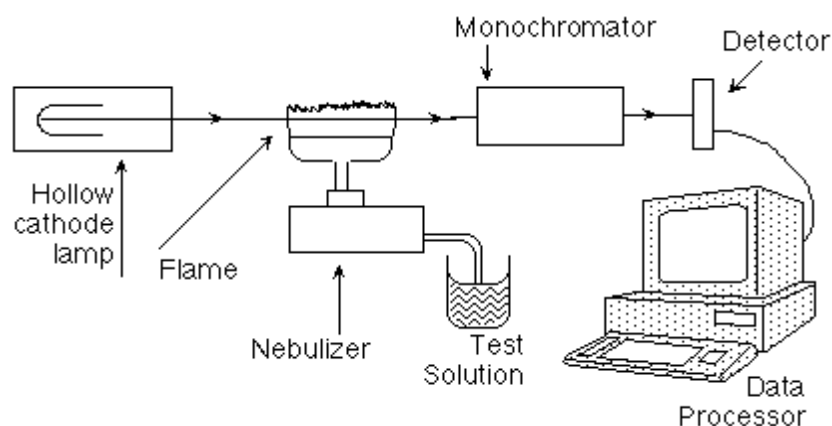


Figura 3. Esquema del funcionamiento de la Espectroscopia de Absorción Atómica

Otro dato a tener en cuenta es que los atomizadores utilizados más comunes son los de llama de aire-acetileno con una temperatura en la llama de 2300 °C y los de óxido de dinitrógeno-acetileno con una temperatura de llama de 2700 °C. En el sistema $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$, además ofrece un ambiente más reductor, ideal para analitos con alta afinidad al oxígeno.

4.4 Espectroscopia de emisión atómica

Los fundamentos y el funcionamiento de la espectroscopia de absorción y emisión son bastante similares entre sí. Si bien en la absorción atómica se mide la luz absorbida por los átomos irradiados y atomizados en la llama, en la emisión se mide la radiación generada por la excitación de los átomos en la llama. Por lo tanto, esta técnica sólo se puede utilizar con elementos capaces de irradiar al excitarse en la llama.

5. Parte experimental

5.1. Reactivos

- Acetato de amonio // Sigma-Aldrich Pureza *puriss p.a.* ($\geq 98\%$)
- Nitrato de amonio // PROBUS Pureza 99%
- Fluoruro de amonio // PROBUS Químicamente puro
- EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético) // Panreac Pureza 99%
- EDTA- Na_2H_2 (EDTA sal disódica) // Sigma-Aldrich Pureza 99-101%
- Ácido nítrico 65% // Scharlau Extra puro
- Ácido acético glacial // J.T.Baker Pureza 99-100%
- Solución acuosa de amoníaco al 25%
- Óxido de lantano (III) // Merck Pureza 99,5%
- Ácido clorhídrico concentrado // SigmaAldrich Pureza *puriss p.a.* ($\geq 37\%$)
- Soluciones patrón de Ca, Mg, Na y K:
 - Solución de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ para 1000 ppm de Ca^{2+}
 - Solución de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ para 1000 ppm de Mg^{2+}
 - Solución de NaNO_3 para 1000 ppm de Na^+
 - Solución de KNO_3 para 1000 ppm de K^+

5.2. Preparación de reactivos

Todas las soluciones, cuyas preparaciones se describen a continuación, se estiman para un volumen final de un litro. Se ha elegido un litro para que sea más fácil para el observador el hacer las conversiones en caso de que utilice un volumen diferente, sea este mayor o menor.

5.2.1 Preparación de la solución de acetato de amonio 1 M

Para la preparación de la solución de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (escrito como NH_4Ac a partir de ahora), se pesan 77,08 gramos de acetato de amonio en un vaso de precipitados y se le añade un volumen considerable de agua destilada (sin sobrepasar el litro). Una vez se encuentre disuelto, acercaremos el volumen final al litro y nos dispondremos a medir el pH de la solución, que para que el reactivo actúe con máxima eficiencia, tiene que ser de exactamente 7. En caso contrario, hará falta equilibrar la solución añadiendo ácido acético glacial para reducir el pH, o solución de amoníaco al 25% en caso de tener que aumentarlo. Cuando el pH sea 7, se pasa la solución a un matraz y se enrasa a un litro. Una vez enrasado,

se pasa a una botella para su almacenamiento hasta que sea necesaria su utilización.

5.2.2. Preparación de Mehlich-3

Para la preparación del Mehlich-3, debido a que la cantidad total de solución extractante que necesitamos no era muy excesiva, realizamos una pequeña variación respecto al método estandarizado de preparación de la solución.

El procedimiento estándar, nos dice que primero hay que calibrar una garrafa limpia y seca hecha de materiales poliméricos (como puede ser polipropileno o poliestireno) a un volumen de 20 litros, añadiendo agua destilada en incrementos de 1000 gramos. Una vez calibrada, introducir un imán de entre 1,5 y 2,5 pulgadas y colocar la garrafa encima de un agitador magnético. Una vez en su posición, añadir 8 litros de agua destilada ultra pura (con una resistencia de como mínimo 16,5 MΩ).

En una balanza digital/granataria (xxxx,xx g), pesar 400 g del reactivo NH_4NO_3 en un vaso de precipitados. Abocar el contenido a la garrafa y esperar a que se disuelva al ser sometido a agitación. La disolución debería ser relativamente rápida, aunque puede llegar a los 20 minutos de espera.

También en la balanza, pesar 11,12 gramos de NH_4F en un vaso de plástico, añadir el contenido a la garrafa y tirar el vaso a la basura después de su uso. Se vuelve a aplicar agitación (puede tardar una hora el que se disuelva) y al final puede que algún precipitado blanco se mantenga. Este precipitado es CaF_2 o MgF_2 y se genera por las impurezas que el reactivo NH_4NO_3 pueda contener.

Igual que con el NH_4F , 5,84 gramos de EDTA se pesan en un vaso de plástico, se añaden a la garrafa y el vaso se tira. El EDTA es mucho más lento de disolver, llegando hasta las 3 horas de tiempo necesario. Es posible que persista un precipitado blanco. Se debe a que el proceso de producción de EDTA- H_4 , resulta en pequeñas trazas de EDTA- Mg_2 y EDTA- Ca_2 estando presentes en el reactivo. Este precipitado permanecerá en el fondo de la garrafa y puede ser eliminado al limpiar las garrafas entre tandas de preparación del Mehlich-3.

Para el ácido acético, añadir 230 ml a la solución utilizando una probeta que sea hecha de material polimérico, pues si se utiliza cristal, el sodio podría ser extraído en pequeñas proporciones. Lavar la probeta con agua destilada ultra pura y añadir

el contenido a la garrafa para asegurarnos de que hasta la más mínima gota de ácido que haya quedado en la probeta se ha añadido a la solución.

Para el ácido nítrico, seguir el procedimiento como con el ácido acético, utilizando probeta de plástico. Medir un volumen de 16,4 ml y añadirlo a la solución.

Añadir agua hasta alcanzar la marca de los 20 litros y agitar durante 1 hora mínimo para asegurar la correcta mezcla de la solución. Una vez termine, cal mesurar el pH para asegurarnos que se encuentra a $2,5 \pm 0,1$. Ajustar el pH de la solución si es necesario con HCl 1 M para reducirlo o NH_4OH 1 M para aumentarlo [4].

Si en el laboratorio se hace un uso extensivo de la solución de Mehlich-3, también se puede realizar preparando primero una solución de fluoruro de amonio y EDTA independiente. Para esta solución, cal disolver 138,9 gramos de lo duro de amonio y 73,5 g de EDTA en un litro de agua. Luego, para la solución final, será necesario pipetear 4 mililitros de esta solución por litro de a solución final (que en el caso de la preparación estándar, habría que añadir 80 ml para los 20 litros de la solución final). Esto nos permitiría acelerar la preparación del Mehlich-3.

En el caso de este trabajo, la cantidad de reactivo Mehlich necesaria era muy inferior a 20 litros. Así que modifiqué ligeramente la preparación estándar para adecuarla a una preparación de 1 litro.

Para este caso, cal pesar 20,01 gramos de nitrato de amonio en una balanza digital o granataria y utilizar como recipiente un vaso de precipitados de polipropileno que previamente ha sido calibrado y marcado a 1 litro. A este recipiente, añadir 0,5556 gramos de fluoruro de amonio y 0,2923 gramos de EDTA (ambos pesados en balanza analítica) que han sido pesados en vasos independientes y disolverlos en aproximadamente 850 mililitros de agua. Como en la estándar, será necesario someter la solución a agitación, pero como el volumen de agua añadido es relativamente más grande que en la preparación estándar (nuestro volumen de agua para destilar es del 85 % del total mientras que en el estándar el volumen es el 40 % del total), se disolverá mucho más rápidamente. Una vez esté todo disuelto (pueden quedar pequeñas trazas debido a impurezas), añadimos 11,55 mililitros de ácido acético glacial y 0,89 mililitros de ácido nítrico concentrado utilizando pipetas aforadas viejas para evitar al máximo que se extraiga Na^+ del vidrio.

Una vez la solución contenga los 5 reactivos, enrasamos hasta la marca del litro (con la agitación parada y el imán quitado) y medimos el pH de la solución. Si la solución se ha preparado correctamente, el pH tendría que ser de 2,5 (se acepta si está en un intervalo entre 2,4 y 2,6). Una vez comprobado el pH, y pasarlo del vaso al recipiente/contenedor de plástico definitivo. En nuestro caso, este recipiente definitivo no es más que una botella de poliestireno de 1 litro de reactivos líquidos que teníamos en el laboratorio, que antes de usarla se lavó a conciencia y dejamos secar.

Las concentraciones finales de los reactivos en la solución final son las siguientes, se haya preparado de forma directa o con la solución intermedia de NH_4F -EDTA:

- Nitrato de amonio 0,25 M
- Fluoruro de amonio 0,015 M
- EDTA 0,001 M
- Ácido acético 0,2 M
- Ácido nítrico 0,013 M

5.2.3. Preparación de la solución de óxido de lantano

La solución del lantano se utiliza para evitar interferencias que puedan ser debidas a la presencia de elementos como el aluminio, grupos fosfato y sulfatos, especialmente en la determinación del calcio.

Para preparar la solución de 50 g/litro, se pesan 50 gramos de óxido de lantano en un vaso de precipitados, se añade un poco de agua destilada y se agita. A continuación, se añade poco a poco 250 mililitros de ácido clorhídrico concentrado muy lentamente vigilando que no salpique y que se vaya disolviendo. Cuando veamos que está disuelto por completo (la solución queda totalmente incolora), pasarlo a un matraz de un litro y enrasar con agua destilada.

Esta solución nos servirá de solución madre respecto a la solución que utilizaremos para hacer las diluciones de las muestras y los patrones en la espectroscopia de absorción de calcio y magnesio. La solución a utilizar será de 1 g/l, por lo que habrá que realizar una dilución 1/50, o lo que es lo mismo, 20 mililitros en 1 litro de agua destilada.

5.3. Material

- Vasos de precipitados de 100 ml
- Embudos de vidrio y de plástico (polipropileno)
- Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml
- Pipetas aforadas y graduadas
- Papel filtro Whatman nº2
- Diluidor automático Metrohm Dosimat 725
- Vasos de plástico (polipropileno)
- Tubos de plástico (poliestireno) de 10 y 50 ml
- Parafilm
- Espectrofotómetro de absorción/emisión atómica PerkinElmer AAnalyst 400
- Balanza digital/granataria MonoBloc PB3002-S
- Balanza analítica METTLER AE 200
- Jeringa (polietileno) de 30 ml

5.4. Procedimiento

La principal ventaja de la solución Mehlich respecto a la de acetato de amonio es menor tiempo de extracción necesario. La duración aproximada de una extracción mediante el método acetato de amonio es de 27 horas sin tener en cuenta el tiempo de filtración. Con el método de Mehlich, el tiempo necesario para la extracción es de tan sólo 5 minutos.

5.4.1. Extracción con Acetato de Amonio

Para comenzar el proceso de extracción, se pesan 5 gramos de tierra de un diámetro máximo de 2 milímetros en un vaso de precipitados de 100 ml, se le añaden 50 mililitros de la solución de acetato de amonio 1 M y se somete a agitación durante dos horas. Una vez pasado el tiempo correspondiente, se para la agitación, se tapa con parafilm y se deja en reposo durante 24 horas. Al día siguiente, se inicia la agitación otra vez, pero en ese caso, durante sólo media hora y, una vez acabado, se para y se filtra el contenido con papel Whatman nº 2. El filtrado se recoge en un matraz aforado de 100 mililitros y el vaso donde se realizó la agitación se lava con más solución de NH_4Ac y se aboca también en el mismo embudo para que el contenido vaya al mismo matraz hasta llegar próximo al enrase y acabar de enrasar con NH_4Ac filtrado.

También cal preparar un blanco filtrando el acetato de amonio (una vez enrasado, filtrar un poco de NH_4Ac en un vaso limpio para así tener solución filtrada para enrasar todas las muestras) y realizar una muestra de tierra patrón, cuya concentración de cationes se conoce.

5.4.2 Extracción con Mehlich-3

En el caso del Mehlich-3, la cantidad de muestra pesada y de reactivo a añadir no está marcada por un número fijo. La única regla que hay que seguir es que la relación de tierra pesada y reactivo utilizado sea de 1:10. En nuestro caso, pesamos 2,5 gramos de tierra en un vaso de polipropileno (máxima capacidad de 75 ml) y añadimos 25 mililitros de solución extractante. Para medir y añadir este volumen, como no disponemos de material volumétrico de plástico (probetas), compramos y utilizamos una jeringa de polietileno para hacer las labores de pipetear la solución en el vaso. Esta jeringa, la hemos calibrado como con el vaso donde se preparó la solución extractora, pero en este caso, el volumen calibrado es de 25 ml. La forma de calibrarla fue taponando la salida inferior de la jeringa con parafilm y, con el émbolo sacado, pipetear 25 ml de H_2O destilada y marcar una línea hasta donde llegue el agua. Ése será la medida de 25 ml real y no la grafiada en la propia jeringa.

Una vez se encuentra la muestra con la solución añadida, se introduce un imán y se somete a agitación durante exactamente 5 minutos. Cal vigilar que, una vez pasen los 5 minutos, el contenido tiene que ponerse a ser filtrado en un máximo de 3 minutos para evitar que continúe habiendo contacto entre tierra y solución. Por lo tanto, la preparación de los embudos para filtrar (que son de polipropileno) y de los tubos donde almacenaremos el filtrado tienen que estar ya listos y preparados, para que en el momento que se pare la agitación, se aboque directamente al embudo para filtrar. El papel de filtro utilizado es el mismo que en el método del NH_4Ac , papel de filtro Whatman nº2. A diferencia del método del acetato, con el Mehlich la solución que se filtra no se lleva luego a enrase, pues se considera que aunque a la hora de filtrar haya pérdidas de volumen, el volumen obtenido tiene una concentración equivalente a cuando antes de filtrar tenía 25 ml (parte de la solución se pierde humedeciendo el papel de filtro, otra pequeña porción se queda retenida con la tierra). Es decir, una vez finalizada la agitación, la concentración antes y después de ser filtrado es la misma, lo único que como al filtrar se pierde volumen, también se reduce el número de moles final pero la concentración es la misma. Aproximadamente se pierden 5 ml.

Otro punto a tener en cuenta es que la muestra, una vez filtrada y lista, se puede volver inestable a partir de los 7 días. Durante nuestros análisis, el tiempo máximo que las muestras aguantaron estables fue de 8 días, cuando la media es de 10. La diferencia se debe a que al ser este laboratorio, uno destinado al análisis de vinos, se debe mantener una temperatura en el interior de 20 °C. Esto implica que en lugares con una temperatura ambiente inferior a los 20, las muestras sean capaces de mantenerse estables algo más de tiempo.

5.4.3. Patrones rectas de calibración

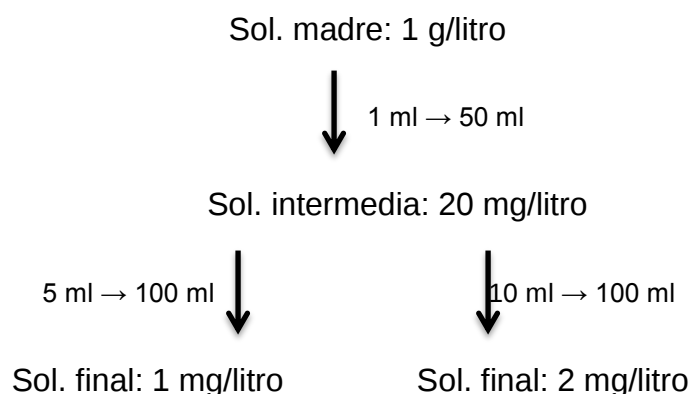
Las soluciones patrón se preparan a partir de la solución madre de cada elemento. Como pasar de una concentración de 1000 ppm a una de, por ejemplo 2 ppm, es demasiado grande para hacerla directamente, se llevará a cabo la preparación de soluciones intermedias. De estas se partirá a la hora de preparar las soluciones patrón. Cal recordar, que la espectroscopia de absorción o emisión atómicas son análisis unielementales, por lo tanto, análisis univariante. Por lo que se tendrán que realizar 4 análisis con sus 4 rectas de calibrado, uno para cada elemento. También hay que destacar que las soluciones intermedias de Mg^{2+} y Ca^{2+} se pueden preparar perfectamente con agua destilada ultra pura, pero que los patrones para medir creados de estas soluciones intermedias habrá que enrasarlos con la solución de 1g/litro de La_2O_3 , que como ya se ha dicho anteriormente, nos sirve para evitar interferencias.

5.4.3.1. Potasio

Patrones de 0; 1 y 2 ppm.

El patrón de 0 ppm es H_2O destilada pura.

Preparación:

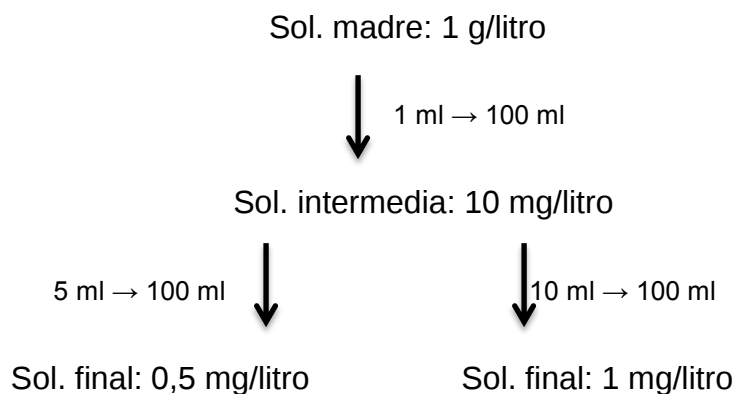


5.4.3.2. Sodio

Patrones de 0; 0,5 y 1 ppm.

El patrón de 0 ppm es H₂O destilada pura.

Preparación:

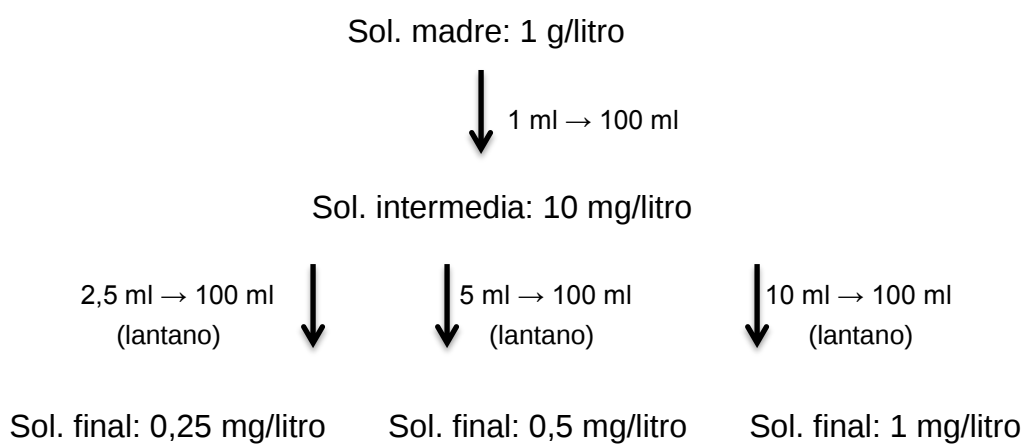


5.4.3.3. Magnesio

Patrones de 0, 0,25; 0,5 y 1 ppm.

El patrón de 0 ppm es solución 1 g/litro de La₂O₃.

Preparación:

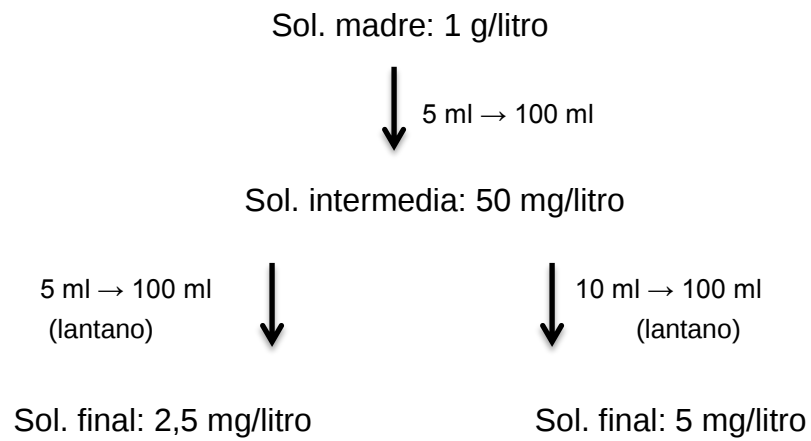


5.4.3.4. Calcio

Patrones de 0; 2,5 y 5 ppm.

El patrón de 0 ppm es solución 1 g/litro de La_2O_3 .

Preparación:



6. Resultados y discusión

Para la utilización del espectrofotómetro, el software utilizado en el ordenador conectado es el programa WinLab 32, una herramienta que nos permite controlar todos los aspectos manipulables del instrumento y etiquetar de forma sencilla todas las muestras a analizar. Trabaja realizando una regresión lineal por mínimos cuadrados a partir de la respuesta dada por los patrones. La recta que genera pasa siempre por el origen de coordenadas, ya que la respuesta obtenida por el patrón de 0 ppm la utiliza para realizar un auto-cero. De esta forma, la recta que nos queda es del tipo $Y = a * X$, donde a es la pendiente, X la concentración e Y es la absorbancia. Un aspecto importante que nos puede permitir discernir si la recta obtenida es buena o no aun obteniendo un coeficiente de correlación (r^2) aceptable, es el comparar la recta con otras obtenidas anteriormente (siempre la comparación con rectas del mismo catión), para así poder asegurarnos que los valores de concentración no se verán tergiversados por una pendiente más o menos pronunciada, aun cuando el valor de r^2 sea bueno.

Hablando de concentraciones, el valor de concentración que da el programa está expresado como mg/litro. Pero a la hora de dar resultados, hay 2 formatos que se utilizan: meq/100 g de muestra y mg/Kg de materia seca. Para pasar a alguna de estas dos unidades, habrá que tener en cuenta la dilución realizada a la muestra a la hora de ponerla en el espectrofotómetro y, también, el resultado de la señal del blanco y su dilución correspondiente. Los cálculos serían los siguientes:

- Obtener valor de mg/litro de catión real (quitar dilución y restar señal del blanco)

$$C.muestra \times Dil.muestra - C.blanco \times Dil.blanco = C.muestra\ real\ (mg/litro)$$

- Pasar de mg/litro a meq/100g de muestra

$$\frac{mg\ muestra\ real}{1\ litro} \times \frac{1\ mmol\ Cat.}{P.M.\ Cat.\ (mg)} \times \frac{1\ meq\ Cat.}{1\ mmol\ Cat.} \times \frac{Vol.\ extracción\ (ml)}{pesada\ tierra\ (g)} \times \frac{1\ litro}{1000\ ml} = \frac{meq}{1\ gramo} \times 100 = \frac{meq}{100\ gramos}$$

- Pasar de mg/litro a mg/Kg mat. seca

$$\frac{mg\ muestra\ real}{1\ litro} \times \frac{1\ litro}{1000\ ml} \times \frac{Vol.\ extracción\ (ml)}{pesada\ tierra\ (g)} \times \frac{1000\ gramos}{1\ Kg} = \frac{mg}{Kg\ de\ mat.seca}$$

El número de muestras seleccionadas para este trabajo ha sido de 9. El porqué de ese número viene de querer obtener al menos 4 valores de concentración por debajo y 4 por encima de los de la tierra patrón. De esta forma intentamos garantizar que al enfrentar un método contra otro, tengamos un intervalo de resultados lo más amplio posible. Además, los resultados que se obtuvieron cuando se analizaron las muestras en su momento, también serán facilitados en cada apartado destinado a cada catión. Las muestras se analizaron divididas en diversas tandas, donde hasta que no se conocían los resultados de todos los cationes por absorción o emisión, no se procedía a preparar la siguiente. Se dividió de esta forma para asegurarnos de que podíamos acabar cada tanda dentro del límite de tiempo que nos da la solución extraída con Mehlich antes de que comience a ser inestable.

En la primera tanda, para ver cómo se desarrolla todo el proceso y para poder detectar y corregir cualquier imprevisto que pudiera surgir al aplicar un método nuevo, elaboramos la tanda con sólo múltiples muestras de la tierra patrón, cuyos valores de concentración de cationes conocemos. Otra oportunidad que nos brindaba y que aprovechamos, fue la de realizar las extracciones con Mehlich utilizando diferentes volúmenes y cantidad de tierra pesada (siempre manteniendo la relación 1:10 que ya habíamos comentado antes). De esta forma, podremos comprobar si existe la más mínima diferencia al utilizar volúmenes de extracción diferentes. Escogimos utilizar 25 ml y 50 ml como volúmenes de extracción (con sus respectivos 2,5 y 5 gramos de tierra).

Tabla 4. Resultados de las tierras patrón para los 4 cationes.

<u>K⁺</u>		
Muestra	meq/100g	mg/Kg
NH ₄ Ac		
P2449-1	0,96	373,60
P2449-2	0,95	372,80
P2449-3	0,95	370,40
Mehlich		
P2449-1 (2,5)	0,93	363,37
P2449-2 (2,5)	0,86	336,97
P2449-3 (2,5)	0,85	334,17
P2449-4 (5)	0,87	339,37

<u>Na⁺</u>		
Muestra	meq/100g	mg/Kg
NH ₄ Ac		
P2449-1	0,23	53,87
P2449-2	0,57	131,07
P2449-3	0,27	61,87
Mehlich		
P2449-1 (2,5)	0,22	49,53
P2449-2 (2,5)	0,27	61,13
P2449-3 (2,5)	0,27	62,33
P2449-4 (5)	0,28	64,33

<u>Mg²⁺</u>		
Muestra	meq/100g	mg/Kg
NH ₄ Ac		
P2449-1	2,07	251,37
P2449-2	1,85	224,57
P2449-3	1,88	228,97
Mehlich		
P2449-1 (2,5)	4,00	485,90
P2449-2 (2,5)	4,08	496,30
P2449-3 (2,5)	3,83	465,10
P2449-4 (5)	3,95	480,30

<u>Ca²⁺</u>		
Muestra	meq/100g	mg/Kg
NH ₄ Ac		
P2449-1	35,45	7.104,67
P2449-2	34,04	6.820,67
P2449-3	42,68	8.552,67
Mehlich		
P2449-1 (2,5)	129,15	25.882,07
P2449-2 (2,5)	135,84	27.222,07
P2449-3 (2,5)	166,98	33.462,07
P2449-4 (5)	142,43	28.542,07

Facilitamos también la información que tenemos de la tierra patrón, que se trata de la muestra que se utilizó en un análisis interlaboratorio realizado en el 2014, donde participaron 21 laboratorios.

Tabla 5. Valores de concentración de la tierra patrón.

Muestra patrón	Na		K		Ca		Mg		K/Mg
	meq/100g	mg/kg	meq/100g	mg/kg	meq/100g	mg/kg	meq/100g	mg/kg	
P2449									
Valor asignado	0,14	32,50	0,77	300,00	22,36	4.481,00	1,42	173,00	0,54
Límite sup. aceptado	0,22	49,50	0,95	371,00	33,50	6.713,00	2,14	260,00	0,44
Límite inf. aceptado	0,07	15,50	0,59	229,00	12,56	2.518,00	0,71	86,00	0,83

Los resultados obtenidos son los esperados, y a la vez, no lo son. Primero cal destacar que no existen diferencias entre usar 2,5 gramos de tierra y usar 5 gramos (siempre manteniendo la relación 1:10 de tierra/solución extractora). Por lo tanto, utilizar la menor cantidad posible nos ayuda a limitar el gasto de reactivo necesario, reduciendo a la mitad su volumen respecto a la cantidad usada de NH₄Ac. Queda por comprobar si es posible reducirlo aún más, pero entramos en riesgo de que durante las determinaciones no tengamos reactivo suficiente para poder llevar a cabo repeticiones en caso de que sea necesario. Los resultados obtenidos para los cationes alcalinos han dado lo que se esperaba de ellos [5], siendo la concentración de Na⁺ superior en Mehlich y la de K⁺ superior en NH₄Ac; pero no lo son para nada en el caso de los cationes alcalinotérreos.

El aumento de la señal en la segunda muestra de patrón puede ser debido a la complejidad de la matriz de la tierra y el hecho de que la concentración de cationes no sea uniforme como lo sería en una solución con un solvente líquido, dando lugar a estos picos de señal (tanto en aumento como en disminución).

La cantidad enorme de calcio extraído mediante Mehlich y el hecho de que el resultado del magnesio prácticamente se dobla, se debe a la composición física de la propia tierra. Al ser una tierra arcillosa con un alto contenido de piedra caliza, calcita (CaCO_3) y magnesita (MgCO_3), es muy probable que el gradiente de concentración haga que se intercambie Ca^{2+} y Mg^{2+} no solo de las partículas de la tierra (arcilla y limo principalmente), sino que también se intercambie con los de la calcita, dando lugar a estas señales tan grandes (al menos, más que con el método del acetato).

6.1. Potasio

Iniciamos la discusión de resultados de las muestras de tierra comentando primero el potasio, dándole la importancia que se merece al ser uno de los 3 nutrientes más importantes para el desarrollo de las plantas (junto al nitrógeno y fósforo).

Tabla 6. Resultados K^+ de las muestras en meq/100g.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	NH_4Ac	Mehlich	NH_4Ac validado
P2449	0,97	0,85	0,84
1500525	0,50	0,44	0,40
1500663	0,60	0,55	0,60
1501118	0,27	0,20	0,22
1501218	0,26	0,18	0,22
1405570	0,91	0,85	0,97
1501357	1,20	0,91	1,28
1502891	1,22	1,23	1,05
1502370	0,80	0,74	0,85
1505400	1,27	1,19	1,09

Tabla 7. Resultados K^+ de las muestras en mg/Kg.

<u>mg/Kg</u>			
Muestra	NH_4Ac	Mehlich	NH_4Ac validado
P2449	377,33	333,00	328,80
1500525	194,80	171,80	156,40
1500663	234,80	215,40	233,20
1501118	107,20	79,40	86,40
1501218	100,40	69,00	85,20
1405570	356,40	331,67	378,00
1501357	468,40	356,87	500,00
1502891	478,40	481,67	410,13
1502370	314,40	288,07	332,80
1505400	495,60	466,47	424,80

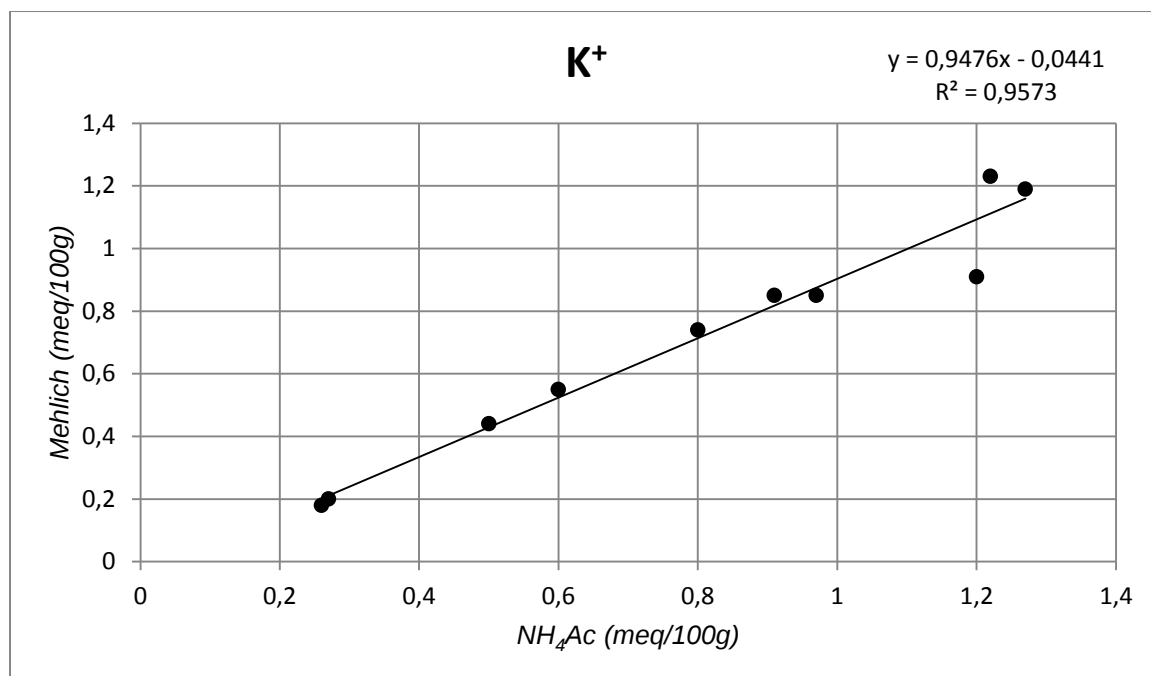


Figura 4. Gráfico de comparación de resultados del NH_4Ac frente del Mehlich para el catión de K^+ .

El potasio es claramente el elemento que menos problemas nos ha dado a la hora de determinar su concentración. Observando los resultados, podemos ver que la habilidad para extraer el catión es muy similar entre ambos, con una ligera tendencia hacia el NH_4Ac , que nos indicaría que este método extrae más que el Mehlich (aunque las diferencias sean ínfimas). Esta tendencia se ve reflejada en la pendiente de la recta de la ecuación, donde un valor próximo 1 indica que las extracciones son equiparables. Incluso podríamos llegar a plantear que la pequeña diferencia entre ambos métodos es despreciable, pues la tierra es una matriz compleja y no uniforme, pudiendo existir entre dos porciones de la misma tierra, diferencias en los valores de concentración.

Otro aspecto a tener en cuenta es el valor de r^2 obtenido. Con un valor de 0,9595, nos indica con claridad que las muestras están correlacionadas y que, por lo tanto, el método Mehlich se podría aplicar sin necesidad de usar factor de corrección.

Ya por último, observar que los resultados obtenidos por mí con los dos métodos son bastante similares a los que se obtuvieron en su momento cuando se determinaron las muestras para los clientes. Posiblemente el dato más importante de todos, pues nos permite corroborar que los resultados obtenidos durante la realización de este trabajo son correctos.

6.2. Sodio

El sodio es uno de los dos cationes que se pueden considerar algo problemáticos (el otro sería el calcio), pues suele ocurrir que su distribución en la tierra no es homogénea debido a que se encuentra en una menor concentración que el resto de cationes, causando una gran variabilidad en los resultados que se pueden obtener. Para comprobar esta variabilidad, compararemos los resultados obtenidos no sólo entre los dos métodos, sino que también los compararemos con los resultados que se obtuvieron cuando los técnicos de laboratorio realizaron las determinaciones de estas tierras en su momento.

Tabla 8. Resultados Na^+ de las muestras en meq/100g.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	NH₄Ac	Mehlich	NH₄Ac validado
P2449	0,32	0,27	0,17
1500525	0,16	0,16	0,05
1500663	0,43	0,48	0,05
1501118	0,27	0,29	0,23
1501218	0,22	0,23	0,10
1405570	0,46	0,48	0,33
1501357	0,14	0,25	0,18
1502891	0,85	1,02	0,82
1502370	0,09	0,09	0,58
1505400	0,38	0,38	0,56

Tabla 9. Resultados Na^+ de las muestras en mg/Kg.

<u>mg/Kg</u>			
Muestra	NH₄Ac	Mehlich	NH₄Ac validado
P2449	74,27	62,47	40,00
1500525	37,07	37,40	11,80
1500663	98,67	109,97	10,40
1501118	61,07	66,79	52,40
1501218	50,67	53,19	22,80
1405570	105,73	109,78	75,20
1501357	32,53	57,40	40,80
1502891	194,53	233,40	187,60
1502370	19,73	21,40	134,40
1505400	87,33	88,20	128,00

Viendo los resultados, podemos apreciar que lo que habíamos comentado sobre la variabilidad del sodio ocurre en este caso, pero no entre las muestras preparadas

y analizadas por mí, sino entre las determinadas por mí y las que se hicieron en su momento.

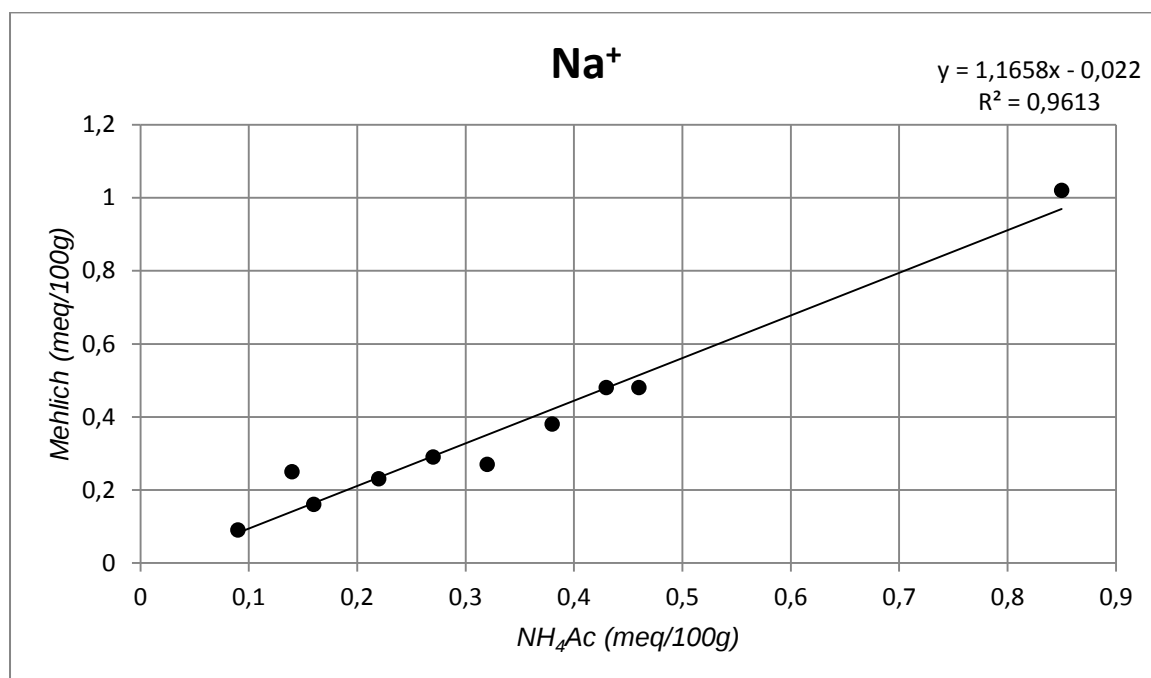


Figura 5. Gráfico de comparación de resultados del NH_4Ac frente del Mehlich para el catión de Na^+ .

Otro aspecto también a tener en cuenta es el ver que la pendiente de valor por encima de 1, justificando el hecho de que la solución Mehlich tiene más afinidad para extraer el sodio debido a los reactivos que contiene y a sus características ácidas.

Aprovechando que en el laboratorio disponíamos de EDTA en la forma de sal disódica ($\text{EDTA-H}_2\text{Na}_2$), decidimos realizar una tanda de muestras preparando la solución Mehlich con el EDTA disódico en lugar del ácido. Esto se debe a que vamos a intentar hacer una simulación de lo que ocurre con el calcio en tierras con alto contenido de piedra caliza, donde la mayor cantidad de catión Ca^{2+} disponible hace que se extraiga no solo el libre, contaminando la muestra con analito que no debería ser extraído.

A continuación se encuentra el cálculo realizado para reajustar la cantidad de EDTA necesario:

$$0,2923 \text{ g EDTA} - H_4 \times \frac{1 \text{ mol}}{292,24 \text{ g}} \times \frac{1 \text{ mol EDTA} - H_2Na_2}{1 \text{ mol EDTA} - H_4} \times \frac{372,24 \text{ g}}{1 \text{ mol EDTA}} = 0,3723 \text{ g EDTA} - H_2Na_2$$

Tabla 10. Resultados Na^+ de las muestras en meq/100g.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	NH ₄ Ac	Mehlich	NH ₄ Ac validado
P2449	0,32	0,75	0,17
1500525	0,16	0,20	0,05
1500663	0,43	0,75	0,05
1501118	0,27	2,29	0,23
1501218	0,22	0,30	0,10
1405570	0,46	0,61	0,33
1501357	0,14	0,57	0,18
1502891	0,85	1,34	0,82
1502370	0,09	5,73	0,58
1505400	0,38	0,74	0,56

Tabla 11. Resultados Na^+ de las muestras en mg/Kg.

<u>mg/Kg</u>			
Muestra	NH ₄ Ac	Mehlich	NH ₄ Ac validado
P2449	74,27	173,00	40,00
1500525	37,07	45,67	11,80
1500663	98,67	171,67	10,40
1501118	61,07	525,67	52,40
1501218	50,67	69,67	22,80
1405570	105,73	139,67	75,20
1501357	32,53	131,67	40,80
1502891	194,53	307,67	187,60
1502370	19,73	1.317,67	134,40
1505400	87,33	169,67	128,00

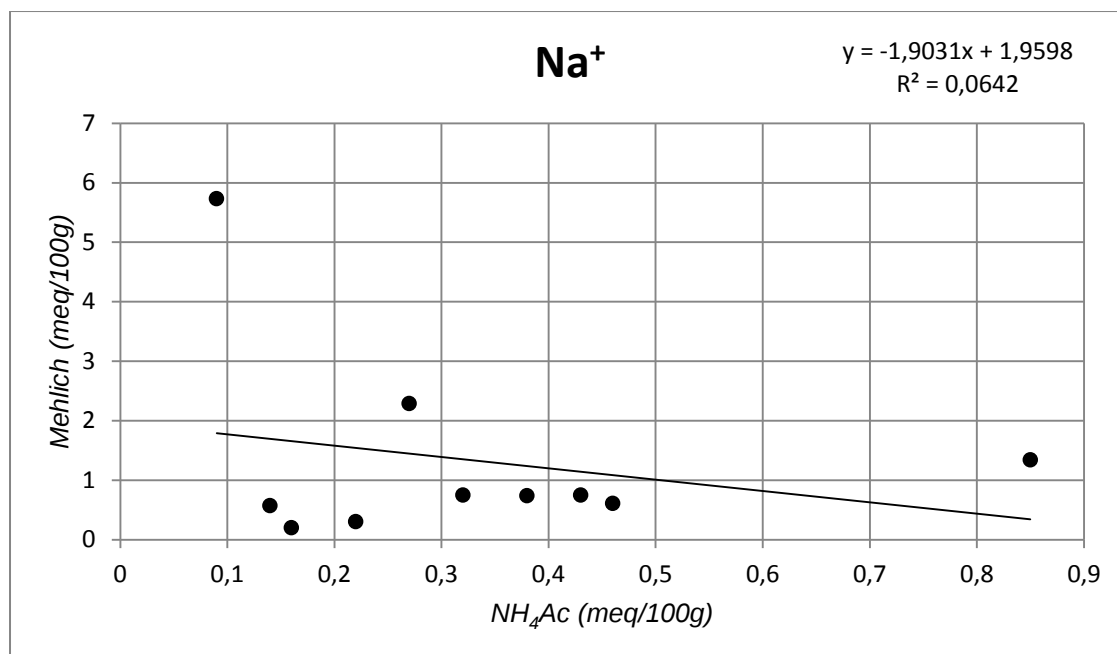


Figura 6. Gráfico de comparación de resultados del NH₄Ac frente del Mehlich para el catión de Na⁺.

Lo ocurrido con la sal de EDTA disódica sobrepasa los niveles de problemas que el calcio nos causa. Ahora el problema no está en un exceso de catión extraído, sino que también en algunas muestras ese pequeño exceso se ha convertido en un déficit.

El porqué de lo que ha ocurrido es muy sencillo de explicar. Mientras que con el calcio (y en menor medida el magnesio) la cantidad de catión extra estaba retenida en la piedra, haciendo que el intercambio catiónico estuviera más regulado por el gradiente de concentración generado por el amonio. En el caso del EDTA disódico, el exceso de sodio no está retenido para nada, lo que hace que el gradiente de concentración tenga menos poder regulador y que en algunas posiciones, el intercambio que haya tenido lugar sea el sodio de la tierra por el sodio del EDTA, por lo que no aumentamos la cantidad de Na⁺ en la solución.

6.3. Magnesio

El magnesio no suele ser un catión que se pueda considerar problemático, aunque no por ello se puede dar lugar a que desconsideremos de él y no lo tengamos en cuenta, pues es en ese momento cuando su presencia nos puede acabar generando problemas.

Estos problemas se pueden manifestar de dos formas: ya sea por la presencia de MgCO₃ en la piedra caliza (lo que nos ocasionaría un exceso de magnesio

extraído, siendo parte de él proveniente de la magnesita) o por la relación que tiene el magnesio con el potasio. Esta relación es muy importante tenerla controlada para que la planta (en este caso la vid) tenga un crecimiento correcto y sin problemas de deficiencia de alguno de los dos cationes.

Tabla 12. Resultados Mg^{2+} de las muestras en meq/100g.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	NH₄Ac	Mehlich	NH₄Ac validado
P2449	1,91	3,40	1,76
1500525	1,26	1,12	1,05
1500663	1,14	1,17	1,15
1501118	1,28	1,28	0,98
1501218	1,24	1,46	0,91
1405570	4,99	5,54	4,87
1501357	2,64	2,29	2,51
1502891	7,26	8,72	7,05
1502370	3,27	3,55	2,85
1505400	1,66	1,70	1,40

Tabla 13. Resultados Mg^{2+} de las muestras en mg/Kg.

<u>mg/Kg</u>			
Muestra	NH₄Ac	Mehlich	NH₄Ac validado
P2449	232,40	413,77	214,00
1500525	153,47	136,20	127,60
1500663	139,07	142,20	139,60
1501118	155,87	155,00	119,20
1501218	151,07	177,80	110,40
1405570	606,60	673,27	591,93
1501357	321,00	278,77	305,60
1502891	882,60	1.060,27	857,33
1502370	397,80	431,77	346,80
1505400	202,20	206,27	170,40

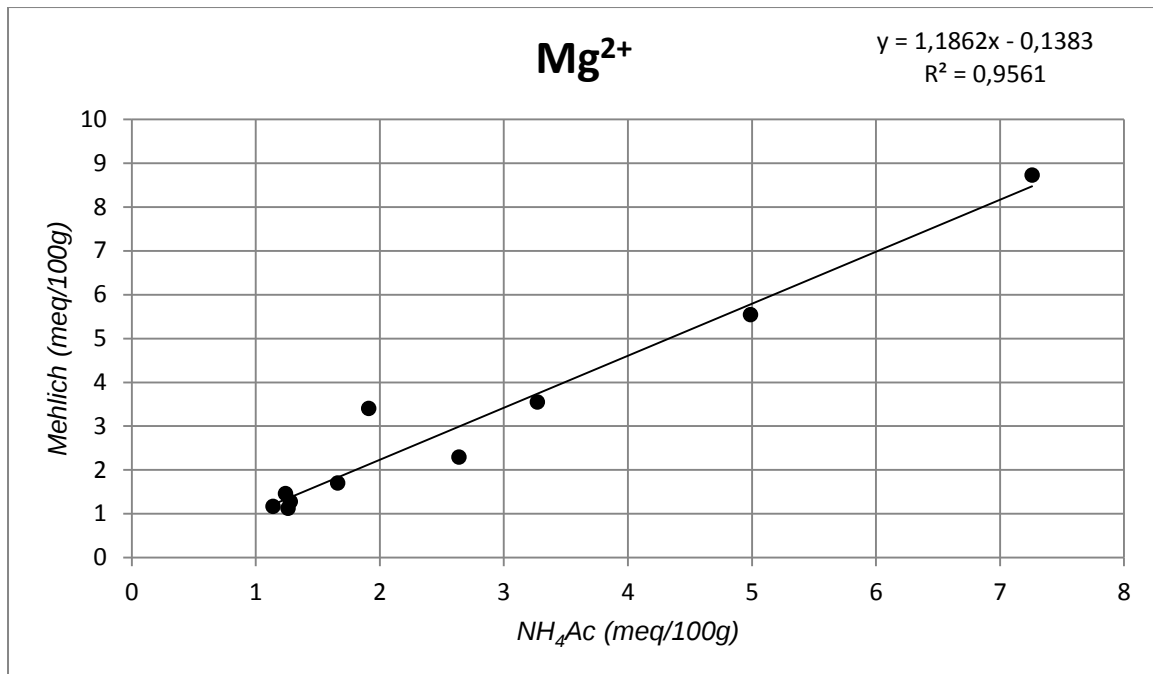


Figura 7. Gráfico de comparación de resultados del NH₄Ac frente del Mehlich para el catión de Mg²⁺.

Lo primero que se observa es lo mismo que habíamos visto ya antes en la tanda inicial de solo tierras patrón. El magnesio de la piedra caliza se ha extraído junto con el libre de la tierra.

Aparte de la muestra patrón, se observa que los resultados entre métodos están correlacionados y son prácticamente equivalentes con un r^2 cercano a 1, con una ligera tendencia hacia la solución Mehlich, pero nada excesivo.

Similar al potasio, la diferencia con respecto a los valores de cuando se analizaron las muestras en su momento es lo bastante pequeña como para que pueda deberse a la complejidad de la matriz de las tierras, por lo que se pueden dar por buenos.

La relación K/Mg nos indica el equilibrio existente entre estos dos cationes, ya que un desequilibrio de alguno de los dos, puede provocar que el desarrollo de la vid se vea afectado llegando en casos extremos a bloquear un catión a otro impidiendo a la planta su absorción, lo que puede dar lugar a que se produzca una clorosis magnésica (similar a la clorosis férrica) o un mal crecimiento debido a la falta de potasio en la planta. El magnesio tiene un rol importante en la fotosíntesis, pues és el átomo central de la clorofila. Por lo tanto, sin suficiente cantidad de Mg, la planta comienza a degradar la clorofila de las hojas viejas para transportar todo el Mg posible a las hojas más nuevas que tienen necesidades fotosintéticas

mayores. Esto causa el principal síntoma de la deficiencia de Mg, que es la clorosis, que sería un amarillamiento de las hojas, que progresa de las hojas viejas a las nuevas en caso de que la deficiencia continuara.

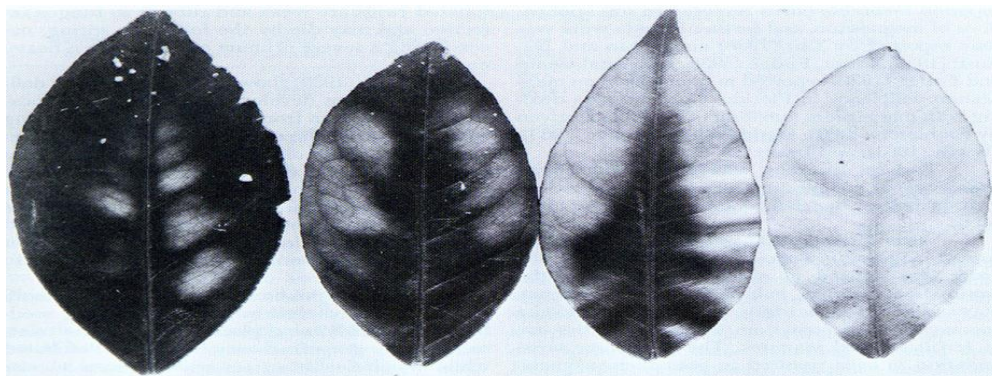


Figura 8. Progresión de la clorosis magnésica (de izquierda a derecha).

Tabla 14. Relación K/Mg de las muestras en meq/100g.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	NH ₄ Ac	Mehlich	NH ₄ Ac. validado
P2449	0,50	0,25	0,48
1500525	0,39	0,39	0,38
1500663	0,52	0,47	0,52
1501118	0,21	0,16	0,22
1501218	0,21	0,12	0,24
1405570	0,18	0,15	0,20
1501357	0,45	0,40	0,51
1502891	0,17	0,14	0,15
1502370	0,25	0,21	0,30
1505400	0,76	0,70	0,78

Tabla 15. Relación K/Mg de las muestras en mg/Kg.

<u>mg/Kg</u>			
Muestra	NH ₄ Ac	Mehlich	NH ₄ Ac. validado
P2449	1,62	0,80	1,54
1500525	1,27	1,26	1,23
1500663	1,69	1,51	1,67
1501118	0,69	0,51	0,72
1501218	0,66	0,39	0,77
1405570	0,59	0,49	0,64
1501357	1,46	1,28	1,64
1502891	0,54	0,45	0,48
1502370	0,79	0,67	0,96
1505400	2,45	2,26	2,49

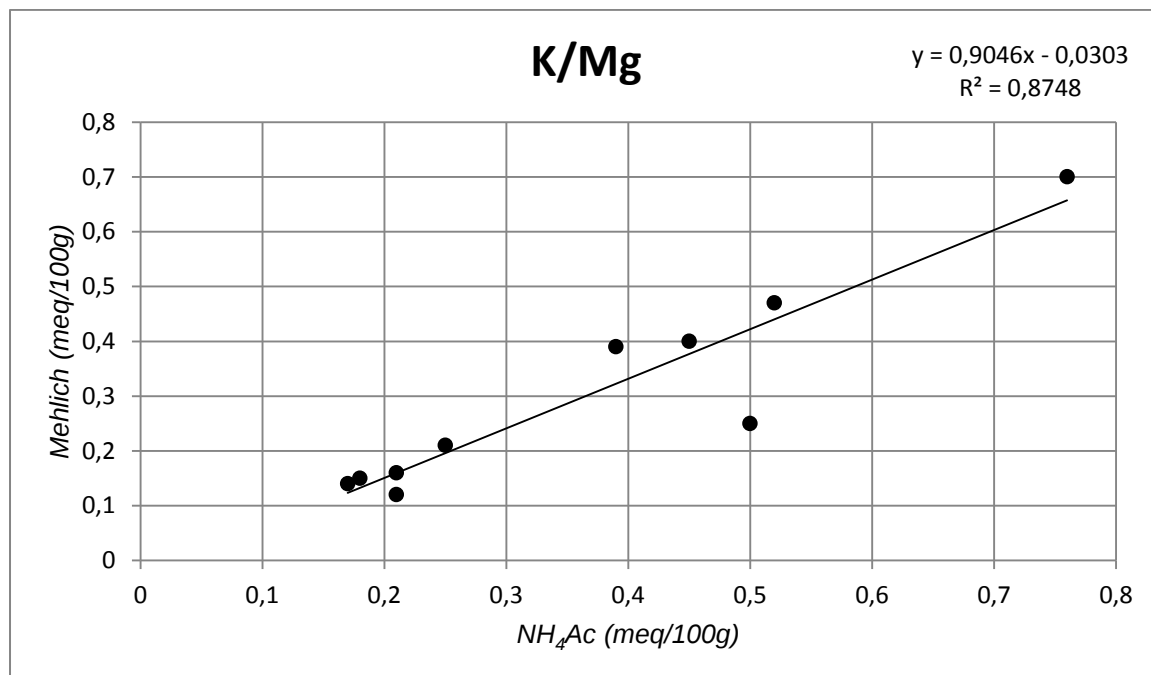


Figura 9. Gráfico de comparación de resultados del NH₄Ac frente del Mehlich para la relación K/Mg.

En los resultados podemos apreciar que, aunque varias tierras se encuentren bastante alejados del 0.5 (que sería el punto de equilibrio idea), las diferencias no son lo suficientemente grandes como para que tengamos que preocuparnos de que un catión bloquee al otro.

La única que se sale de la linealidad corresponde a la tierra patrón, pero su bajo resultado con la solución Mehlich no implica que la tierra pueda sufrir un problema de falta de potasio, pues parte del magnesio analizado nunca tendrá la capacidad de poder intercambiarse, por lo que no afectará a la absorción de sodio.

6.4. Calcio

Como ya he nombrado en varios apartados, el calcio es el otro de los cationes problemáticos, pero por razones distintas. El principal problema viene dado cuando la proporción de piedra caliza en la tierra supera el 10%. A partir de ese valor es cuando su concentración nos perjudica durante las extracciones, pues el gradiente de concentración generado por el amonio de la solución hará que extraigamos calcio libre y calcio de la calcita.

El otro problema puede surgir que el calcio nos precipite en forma de CaF₂ si el pH aumenta por encima de 3 y con el tiempo pierde estabilidad la solución. Al menos,

la formación de CaF_2 se puede ir controlando de forma visual, viendo si se observa la aparición de precipitado con el paso de los días.

Además, es posible que si nuestra tierra posee una gran cantidad de calcita, el proceso de pérdida de estabilidad se acelere de sobremanera, al aumentar la cantidad de calcio extraído y que se encuentra en forma iónica.

Tabla 16. Resultados Ca^{2+} de las muestras en meq/100g.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	NH_4Ac	Mehlich	NH_4Ac validado
P2449	39,91	128,95	38,91
1500525	12,90	14,48	12,17
1500663	10,69	12,51	13,73
1501118	13,57	5,11	5,08
1501218	52,11	61,13	41,15
1405570	40,78	76,65	35,78
1501357	44,51	24,70	43,39
1502891	182,83	160,99	179,94
1502370	102,08	62,25	45,57
1505400	11,48	12,09	8,20

Tabla 17. Resultados Ca^{2+} de las muestras en mg/Kg.

<u>mg/Kg</u>			
Muestra	NH_4Ac	Mehlich	NH_4Ac validado
P2449	7.997,20	25.842,07	7.798,00
1500525	2.585,87	2.902,07	2.752,00
1500663	2.141,87	2.506,07	2.438,00
1501118	2.719,87	1.024,07	1.018,00
1501218	10.441,87	12.250,07	8.246,00
1405570	8.172,00	15.360,07	7.171,00
1501357	8.920,00	4.950,07	8.694,80
1502891	36.640,00	32.262,07	36.059,33
1502370	20.456,00	12.474,07	9.132,00
1505400	2.300,00	2.422,07	1.644,00

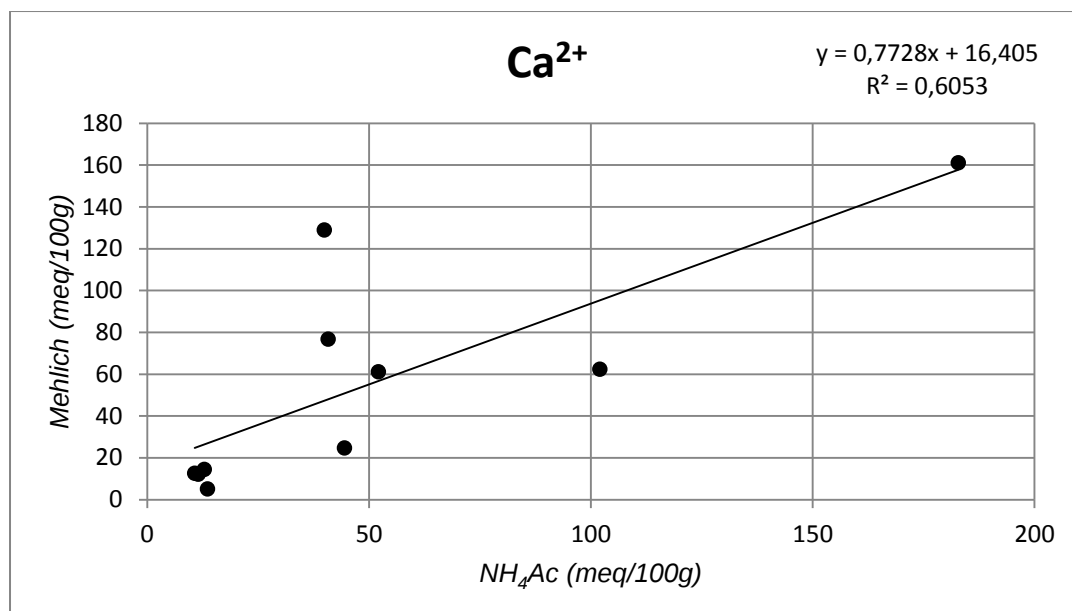


Figura 10. Gráfico de comparación de resultados del NH₄Ac frente del Mehlich para el catión de Ca²⁺.

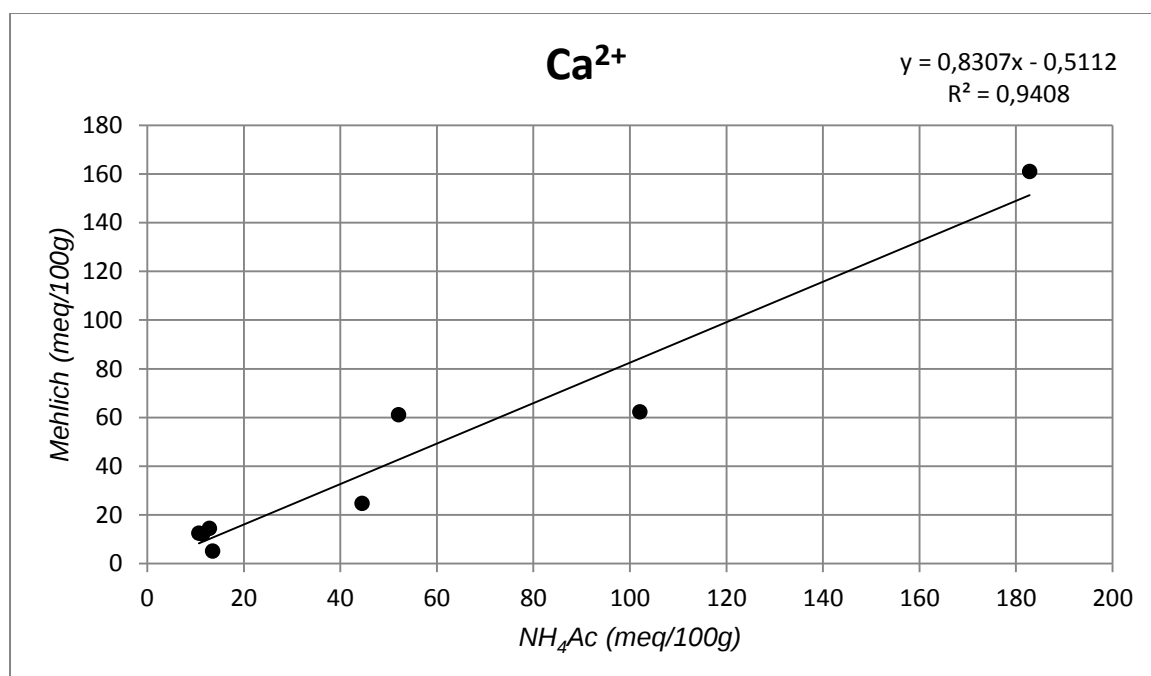


Figura 11. Gráfico de comparación de resultados del NH₄Ac frente del Mehlich para el catión de Ca²⁺ sin las muestras problemáticas (P2449 y 1405570).

Como podemos observar en las tablas, las concentraciones de calcio extraídas con Mehlich en la tierra patrón y en la muestra 1405570 se distancia mucho respecto a las obtenidas por NH₄Ac. Cabe por esperar, el ver si la causa de esto viene por la calcita o por el fluoruro que nos haya podido precipitar, aunque la hipótesis más fuerte por el momento sea la calcita, al no apreciarse precipitado en las muestras a la hora de medir.

Con el resto de tierras menos calcáreas, los resultados indican que el acetato es más eficaz a la hora de extraer el Ca^{2+} . Si eliminamos las tierras donde la concentración con Mehlich se dispara, observamos que la pendiente aumenta ligeramente, lo que implica que el Mehlich en ambiente de trabajo óptimo, se acerca más al Acetato de lo que cabría esperar.

Para poder discernir que causa los valores anómalos de calcio en la tierra patrón y una muestra, planteamos la alternativa de modificar la solución Mehlich para garantizar que no pudiera generarse la precipitación eliminando el fluoruro presente.

7. Alternativas aplicadas

Las alternativas aplicadas al método Mehlich-3 estuvieron todas centradas en un punto en concreto, viendo que para tres de los cationes, los resultados eran bastante correctos. Hubo una duda que nos surgió durante la determinación del calcio y era saber si el exceso de calcio que aparentemente nos da en la señal se debe a que, como teorizado inicialmente, se ha extraído calcio de la calcita aparte de los cationes Ca^{2+} contenidos en las arcillas para realizar los intercambios, o si por el contrario, estos valores tan altos se pudieran deber a que al interactuar con el flúor, nos haya precipitado en forma de fluoruro de calcio (que precipita a pH superiores a 3).

Para poder aclarar tal enigma, preparamos dos variaciones de la solución Mehlich-3, donde sustituimos el fluoruro de amonio por otros reactivos que contienen amonio, para que el contenido total de NH_4^+ se mantenga igual. Para tal función utilizamos en una variación el cloruro de amonio mientras que en la otra, incrementamos la cantidad de nitrato de amonio.

Durante la comprobación del pH, pudimos ver que ambas variaciones de la solución extractora eran más ácidas que la solución original (pH de 1,85 en lugar del 2,5 del Mehlich-3), dando lugar a que pudiéramos intuir que si la formación de CaF_2 en la solución original era inexistente, el resultado final será el de que más calcio proveniente de la calcita será extraído.

Tabla 18. Resultados obtenidos en miliequivalentes por 100 gramos de la determinación de Ca^{2+} para Mehlich y las 2 variaciones planteadas.

<u>meq/100g</u>			
Muestra	Mehlich-3	Mehlich + NH_4Cl	Mehlich + NH_4NO_3
P2449	128,95	162,24	162,76
1500525	14,48	12,54	12,37
1500663	12,51	10,31	12,39
1501118	5,11	7,44	5,93
1501218	61,13	244,28	194,78
1405570	76,65	178,61	182,19
1501357	24,70	51,80	63,88
1502891	160,99	239,58	235,38
1502370	62,25	201,76	209,03
1505400	12,09	13,96	14,22

Tabla 19. Resultados obtenidos en miligramos por kilogramo de la determinación de Ca^{2+} para Mehlich y las 2 variaciones planteadas.

mg/Kg			
Muestra	Mehlich-3	Mehlich + NH_4Cl	Mehlich + NH_4NO_3
P2449	25.842,07	32.512,73	32.617,20
1500525	2.902,07	2.512,73	2.478,53
1500663	2.506,07	2.066,73	2.482,53
1501118	1.024,07	1.490,73	1.188,53
1501218	12.250,07	48.952,73	39.034,53
1405570	15.360,07	35.792,73	36.510,53
1501357	4.950,07	10.380,73	12.802,53
1502891	32.262,07	48.012,73	47.170,53
1502370	12.474,07	40.432,73	41.890,53
1505400	2.422,07	2.796,73	2.850,53

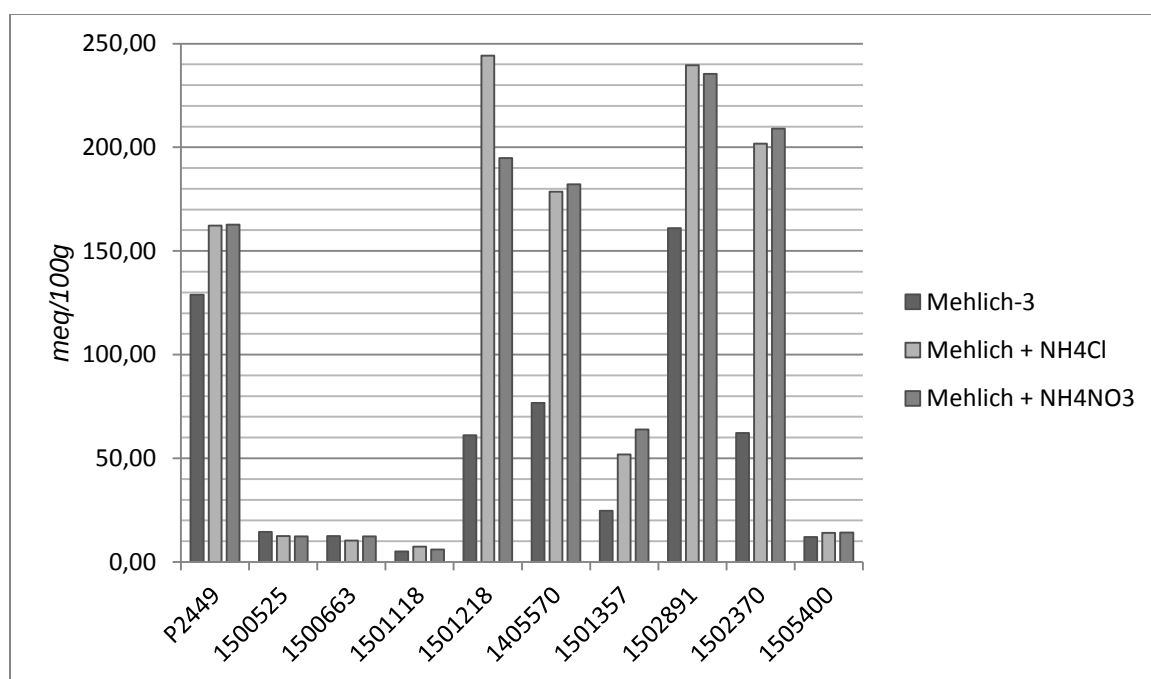


Figura 12. Gráfico de barras representativo de los valores de Ca^{2+} obtenidos mediante extracción de Mehlich-3 y sus variaciones.

Observando los resultados, podemos decir con certeza que no se formaba precipitado de CaF_2 en nuestra muestra y que todo el calcio extra proviene de la calcita. Por lo tanto, si se quiere continuar el intento mejorar la solución Mehlich, habría que buscar formas de reducir o eliminar su interacción con la calcita o directamente buscar otras soluciones extractoras que no presenten este problema.

8. Conclusiones

- We discarded the initial reactants found because of the problems attached to them (CoHex chloride was too expensive to be used on a laboratory on a daily basis and Barium Chloride was toxic).
- Mehlich-3 reactant is a good universal extraction solution that can be used as extractant for soil samples with Calcite concentration under 10% of that of the total soil.
- Mehlich-3 extraction speed is really good, allowing you to perform the analysis the same day of the extraction.
- Variations applied to the method didn't work so well, making the reactant far too strong to be usable.
- Ammonium acetate is still the better method of the two until all the flaws from the Mehlich-3 method (mostly the calcium problem) have been taken care of.
- If Mehlich-3 can't be tweaked any more to improve it, search for alternative methods to put against the ammonium acetate one.

9. Bibliografía

[1] Ciesielski, H.; Sterckeman, T. A comparison between three methods for the determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils. *Agronomie*. **1997**, *17*, 9-16.

[2] Mylavarapu, R.; Obreza, T.; Morgan, K.; Hochmuth, G.; Nair, V.; Wright, A. University of Florida IFAS extension. <http://edis.ifas.ufl.edu/ss620> (fecha consulta 15/04/2016)

[3] Brix, H. Aarhus University (Denmark).
http://mit.biology.au.dk/~biohbn/Protocol/Soil_Exchangeable_Bases_CEC_20081127.pdf (fecha consulta 11/04/2016)

[4] Young, M. (Presidente) Texas A&M University.
<http://soiltesting.tamu.edu/files/mehlich3.pdf> (fecha consulta 07/04/2016)

[5] Nathan, M.; Scharf, P.; Sun, Y.; Dunn, D. University of Missouri.
<http://aes.missouri.edu/pfcs/research/prop304a.pdf> (fecha consulta 08/04/2016)