



INIA  
Instituto Nacional  
de Investigaciones  
Agrícolas

INSTITUTO NACIONAL  
DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

# Abonos orgánicos

**Manual para la toma  
de muestras, procedimientos  
para el análisis químico  
y biológico y cálculos  
para la tasa agronómica  
de aplicación**

**Yusmary Espinoza  
Nestor E. Opispo  
José L. Gil  
Lesly Malpica**

**PUBLICACIÓN TÉCNICA**

El Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) de la República Bolivariana de Venezuela, es un instituto autónomo creado de acuerdo con la Gaceta Oficial N° 36.920 del 28 de marzo de 2000, adscrito al Ministerio del Poder Popular para Agricultura y Tierras por Decreto N° 5.379, Gaceta Oficial N° 38.706 del 15 de junio de 2007.

De acuerdo con el artículo 34 del Reglamento de Publicaciones del INIA, Resolución Nro. 855 con modificaciones realizadas y aprobadas en Junta directiva N° 126, según resolución N° 1456 de fecha 18 de febrero de 2010, esta es una Publicación Técnica.

**Publicaciones Técnicas:** contienen información proveniente de la evaluación de los resultados de investigación e innovación o la puesta en práctica de los mismos, presentados en forma descriptiva o de monografía. Son escritas por investigadores o técnicos y están destinadas fundamentalmente a investigadores, técnicos y estudiantes de educación técnica y superior. Incluye temas tales como: utilización de nuevas vacunas o la obtención y rendimientos de una nueva variedad; medidas sanitarias para la prevención de enfermedades; prácticas agropecuarias; manejo de medicamentos; pasos para tomar muestras, bien sea de suelos o de sangre, y estudios agroecológicos. Toman la forma de folletos. No tienen periodicidad.

Espinoza, Y; Obispo, N.E; Gil, J.L; Malpica, L. 2017. Abonos orgánicos. Manual para la toma de muestras, procedimientos para el análisis químico y biológico y cálculos para la tasa agronómica de aplicación. Maracay, VE. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 62 p.

# **Abonos orgánicos**

**Manual para la toma  
de muestras, procedimientos  
para el análisis químico  
y biológico y cálculos  
para la tasa agronómica  
de aplicación**

Yusmary Espinoza\*  
Néstor E. Obispo\*  
José L. Gil\*  
Lesly Malpica\*

© Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas - INIA, 2017  
Dirección: Edificio Sede Administrativa INIA. Avenida Universidad, vía El Limón,  
Maracay, estado Aragua. Venezuela  
Teléfonos:  
Oficina de Publicaciones No Periódicas (58) 0243 240.47.70  
Oficina de Distribución y Venta de Publicaciones (58) 0243 240.47.79  
Zona Postal 2105  
Página web: <http://www.inia.gob.ve>

### **Equipo editorial de publicaciones No Periódicas INIA**

Gerente de Investigación: Lorena Vivas Ríos  
Editora Jefe de Publicaciones no periódicas: Jessie Vargas  
Editor: Elio Pérez  
Diseño Diagramación y montaje: Sonia Piña y Ofsman Sosa

### **Responsable para esta publicación**

Editor responsable: Jessie Vargas  
Revisor técnico: Jullit Hernández  
Diseño gráfico: Ofsman Sosa

Hecho el Depósito de Ley  
Versión digital  
Depósito Legal: AR22320166001785  
ISBN: 978-980-318-338-7

Esta obra es propiedad del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, publicada para el beneficio y la formación plena de la sociedad, por ello se permite el uso y la reproducción total o parcial de la misma, siempre que se cite al autor y la institución, conforme a las normas de citación vigentes y no se haga con fines de lucro.

# Contenido

|                                                                         | Página |
|-------------------------------------------------------------------------|--------|
| Propósito del manual                                                    | 5      |
| <b>Capítulo</b>                                                         | 7      |
| ¿Qué son los abonos orgánicos?                                          | 7      |
| ¿Qué es compostar?                                                      | 7      |
| Calidad de los abonos orgánicos                                         | 8      |
| <b>Capítulo II</b>                                                      | 13     |
| Recolección de la muestra para análisis químico y microbiológico        | 13     |
| ¿Cómo obtener la muestra del abono orgánico?                            | 13     |
| Abonos orgánicos sólidos                                                | 13     |
| Abono líquido o en suspensión                                           | 14     |
| <b>Capítulo III</b>                                                     | 17     |
| Métodos y procedimientos recomendados para análisis de abonos orgánicos | 17     |
| Preparación de la muestra                                               | 17     |
| Determinaciones químicas                                                | 17     |
| Determinación de la Materia Seca (MS)                                   | 17     |
| Materia Orgánica (MO)                                                   | 19     |
| Contenido de Carbono Orgánico Total (COT)                               | 21     |
| Contenido de Nitrógeno total (Nt)                                       | 21     |
| Nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_4$ ) y nítrico ( $\text{NO}_3$ )       | 24     |
| Método de digestión y disolución para P, K, Ca, Mg y elementos trazas   | 27     |
| Determinación colorimétrica de Fósforo (P)                              | 30     |

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)                                                                      | 33 |
| pH y Conductividad Eléctrica (CE)                                                                             | 35 |
| Determinaciones de bacterias coliformes totales y<br>fecales                                                  | 36 |
| Definiciones                                                                                                  | 37 |
| Asepsia                                                                                                       | 37 |
| Cepa                                                                                                          | 37 |
| Coliformes                                                                                                    | 37 |
| Coliformes fecales                                                                                            | 37 |
| NMP                                                                                                           | 37 |
| Tubos Durham                                                                                                  | 37 |
| Instrucciones de Seguridad                                                                                    | 38 |
| Soluciones de trabajo / Medios de cultivo                                                                     | 40 |
| Medio de Complejo Enzimático (EC)                                                                             | 42 |
| Determinación de la humedad<br>de las muestras de abono orgánico                                              | 43 |
| Preparación de las diluciones                                                                                 | 43 |
| Detección de coliformes totales                                                                               | 45 |
| Confirmación de coliformes fecales                                                                            | 46 |
| Número Más Probable (NMP)                                                                                     | 46 |
| <b>Capítulo IV</b>                                                                                            | 51 |
| Cálculos de las tasas de aplicación de los abonos                                                             | 51 |
| Estrategias de manejo                                                                                         | 52 |
| Ejemplo de cálculos de tasa de aplicación basada<br>en análisis de estiércol para una aplicación de gallinaza | 54 |
| <b>Bibliografía consultada</b>                                                                                | 61 |

## **Propósito del manual**

Este manual ha sido elaborado con el propósito de proporcionar a todo usuario los criterios para la recolección de muestras de abono, que cumplan con los requisitos mínimos exigidos para obtener una muestra representativa del lote.

Además, pretende orientar a los técnicos del laboratorio en el uso de metodologías para el análisis químico y microbiológico de las muestras.

Finalmente, el objetivo es asesorar al productor sobre el cálculo de la cantidad de abono orgánico necesario, que supla las necesidades del cultivo y al mismo tiempo se maneje una agricultura sostenible y ecológicamente segura.



# Capítulo I

## ¿Qué son los abonos orgánicos?

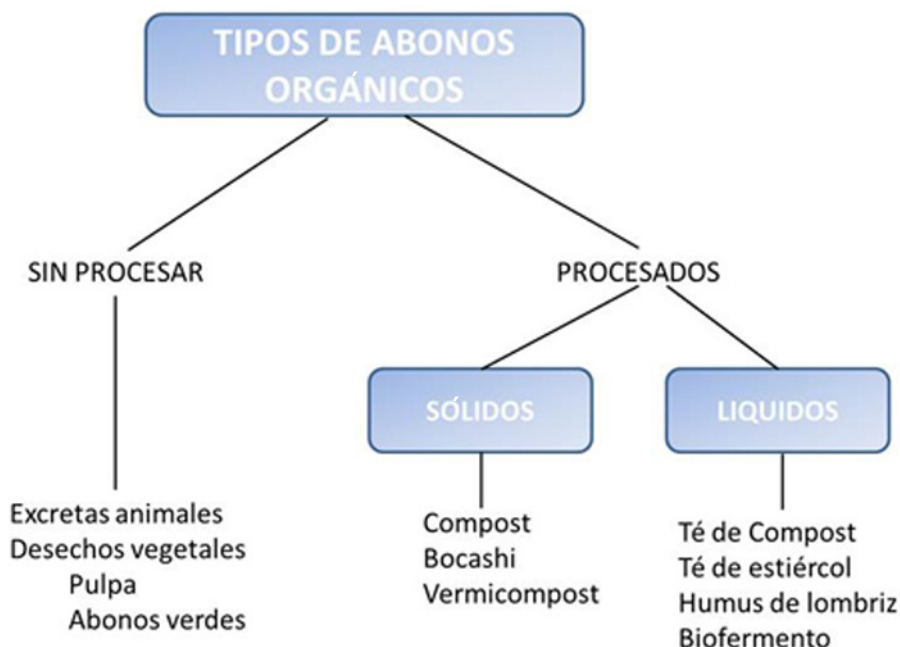
Se entiende por abono orgánico todo material de origen animal o vegetal utilizado para la fertilización de cultivos o como mejorador de suelos. Se incluyen dentro de los abonos orgánicos los materiales como estiércol, desechos de la cocina, restos de plantas, entre otros. El abono es rico en materia orgánica, energía y microorganismos, pero bajo en elementos inorgánicos; sin embargo, su contenido de nutrientes está en función de las concentraciones de éstos en los residuos utilizados.

## ¿Qué es compostar?

Compostar los restos orgánicos no es más que imitar el proceso de fermentación que ocurre normalmente en el suelo, pero más intensificado y dirigido. Se denomina “compost” al producto resultante del proceso de compostaje.

El abono orgánico compostado es estable. Cuando el proceso de fermentación está finalizado la materia resultante contiene nutrientes como nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca), hierro (Fe) y otros elementos necesarios para la vida de las plantas.

Los abonos orgánicos se diferencian entre ellos por la forma como son preparados, por los tipos de productos utilizados para su elaboración, tiempo de fermentación y el uso que se les da (Figura 1).



**Figura 1. Tipos de abonos orgánicos.**

## Calidad de los abonos orgánicos

La calidad de un abono depende de su uso, ya que un abono puede ser bueno para un determinado cultivo pero no para otro. De aquí la importancia de conocer su composición química y las necesidades de fertilización del cultivo, para ajustar correctamente la cantidad de abono. Además, es importante conocer el contenido de metales pesados y microorganismos patógenos del abono para minimizar los riesgos sobre el ambiente y la salud pública.

Generalmente, los nutrientes N, P y K son los de mayor importancia en el uso de abonos orgánicos como fertilizante. Estos nutrientes existen en dos formas: orgánica e inorgánica. Debido a que solo las formas inorgánicas de N y P son disponibles

para la planta, apenas una porción del nutrimento total puede ser utilizado el primer año de su aplicación. La forma orgánica debe ser primero convertida a inorgánica a través del proceso de mineralización, el cual ocurre naturalmente en el suelo. La liberación lenta de nutrientes minimiza posibles daños a los cultivos y previene que el exceso de nutrientes se pierda antes que sea tomado por la planta. La disponibilidad del nutriente para el cultivo dependerá de la relación nutriente orgánico/inorgánico en el abono.

A través de los análisis de laboratorio se puede determinar el  $\text{NH}_4\text{-N}$  y N total. El N orgánico es obtenido por sustracción del nitrógeno amoniacal del N total. Conociendo ambas fracciones, el  $\text{NH}_4\text{-N}$  y el N orgánico, podemos conocer la cantidad de nitrógeno inmediatamente disponible para las plantas y estimar la cantidad que comenzará a ser aprovechable en los años siguientes, cuando el nitrógeno mineral sea liberado del nitrógeno orgánico.

El nitrógeno también puede estar presente en forma de nitrato ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ); sin embargo, las condiciones altamente anaeróbicas existentes en el manejo de abonos orgánicos excluye la presencia de  $\text{NO}_3\text{-N}$ , ya que bajo estas condiciones puede ser convertido a formas gaseosas, óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y por último a N molecular ( $\text{N}_2$ ) por microbios anaeróbicos facultativos como las del género *Pseudomonas* sp., que usan el  $\text{NO}_3\text{-N}$  como aceptor de electrones. Por lo tanto, el  $\text{NO}_3\text{-N}$  no es usualmente incluido en un típico análisis de nutrientes del fertilizante orgánico, al menos que haya alguna razón para esperar su presencia.

El P existe en ambas formas inorgánica y orgánica. Aproximadamente 40% del P total en el abono orgánico esta en forma inorgánica, similar al fertilizante de P comercial ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). Este P mineral es inmediatamente disponible para las plantas al ser aplicado al suelo. El otro 60% está en forma orgánica y debe ser mineralizado antes que sea disponible para los cultivos. Generalmente, la disponibilidad del P orgánico ocurre en los primeros meses de la aplicación del abono. Por lo tanto, como ambas formas

son rápidamente disponibles para las plantas, no es necesario realizar determinaciones separadas de ambas formas, como es el caso del N.

Para el caso del potasio, este no tiene fracción orgánica y es inmediatamente disponible para las plantas, al ser aplicado al suelo.

Es también útil conocer la materia seca o sólidos totales (contenido de humedad) del fertilizante orgánico. Los datos del laboratorio pueden ser reportados sobre base húmeda, base seca, o ambos. Los niveles de sólidos totales afectan la calidad del manejo y las características de densidad aparente del fertilizante orgánico.

Los micronutrientes, como el Ca, Na y Mg, pueden ser importantes en algunos casos.

Por otro lado, desde el punto de vista ambiental y de salud pública, es importante conocer el contenido de metales pesados (hierro, cobre, zinc, plomo, mercurio) y de microorganismos patógenos como *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, entre otros (Cuadro 1).

Otra forma de evaluar la calidad de los abonos es a través de la relación Carbono/Nitrógeno (C/N), la cual limita la actividad microbiana. El C proveniente de los carbohidratos representa la fuente energética y el N como componente crucial de la formación de las proteínas, ácidos nucleicos, aminoácidos, enzimas y coenzimas necesarias para el crecimiento y la funcionalidad de la célula, ambos elementos aportados por los abonos orgánicos.

La mezcla inicial de los distintos materiales que conforman un abono debe estar en una proporción adecuada, para que la mayoría de los microorganismos puedan hacer uso de ellos. Conociendo la relación C/N de los residuos que se incorporan al suelo se puede determinar el tiempo y la cantidad de N que será inmovilizado por los microorganismos del suelo. Cuando la relación

C/N es aproximadamente 20/1, es decir 20 partes de C por 1 parte de N, los restos contienen suficiente nitrógeno para soportar una intensa actividad microbiana. Generalmente una relación 25-30/1, marca el límite entre la inmovilización y liberación de N (mineralización). Cuando la relación alcanza valores mayores de 30/1, comienza la inmovilización del N. De acuerdo a las normas de calidad para un abono orgánico maduro la relación C/N ideal es 15/1.

Aun cuando la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de los compost antes de su aplicación tiene poca relación con su CIC cuando es incorporado al suelo, es importante conocerlo porque puede ser el mejor indicador de madurez comparado con la relación C/N. Se ha demostrado que el CIC aumenta en la medida que su descomposición progresa. Por lo tanto, puede ser posible estimar el grado de madurez de un compost midiendo su CIC. La CIC de los constituyentes minerales del compost ha sido estimada en aproximadamente 10 mEq/100 g de materia seca. Luego de 5 semanas de maduración puede incrementar a 40, 70 y 80 mEq/100 g de materia seca (Harada e Inoko, 1980).

**Cuadro 1.** Rangos de los parámetros más significativos en un abono orgánico.

| <b>Elemento</b>                                      | <b>Rango</b> |
|------------------------------------------------------|--------------|
| pH                                                   | 7 - 7,5      |
| Conductividad eléctrica (mS/cm)                      | 4 - 6        |
| Materia orgánica (%)                                 | 35 - 50      |
| Carbono orgánico (%)                                 | ≥15          |
| Fosforo (%P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )            | 1 - 2        |
| Potasio (%K <sub>2</sub> O)                          | 0,2 - 0,8    |
| Calcio (%)                                           | 6 - 15       |
| Magnesio (%)                                         | 0,57         |
| Sodio (%)                                            | 0,04 - 0,24  |
| Cobre (ppm)                                          | 70 - 400     |
| Manganeso (ppm)                                      | 100 - 500    |
| Hierro (%)                                           | 1,4 - 2,6    |
| Zinc (ppm)                                           | 200 - 1000   |
| Plomo (%)                                            | 45 - 200     |
| Mercurio (ppm)                                       | 0,4 - 2,5    |
| N (%)                                                | 1,5 - 2,5    |
| N orgánico (%)                                       | 1 - 2        |
| Amonio (%)                                           | 0,2 - 0,8    |
| Nitrato (%)                                          | 6 - 15       |
| Relación C/N                                         | 15 - 20      |
| CIC mEq/g                                            | 27 - 83      |
| Microorganismos patógenos                            |              |
| Salmonela NMP/25g                                    | 0            |
| Coliformes fecales ( <i>Escherichia coli</i> ) NMP/g | <1000        |

# Capítulo II

## Recolección de la muestra para análisis químico y microbiológico

### ¿Cómo obtener la muestra del abono orgánico?

El primer paso es conseguir un envase esterilizado o extremadamente limpio. La cantidad de muestra que debe ser colectada depende de los análisis a realizar. Sin embargo, los análisis de rutina (Capítulo I), usualmente pueden ser llevados a cabo con una muestra de 500 g para sólidos y 450 mL para líquidos.

### Abonos orgánicos sólidos

Para obtener una muestra compuesta de abono y/o materias primas sólidas (menos de 50% de humedad) se recomienda tomar las muestras de manera aleatoria luego que los abonos sean colocados en pilas. Para obtener una muestra representativa es necesario mezclar bien el material orgánico para tratar de uniformizar. Muchas veces la humedad en el abono no es uniforme, por lo tanto, el mejor procedimiento es usar criterio propio y tomar varias muestras en proporciones variables dependiendo de las condiciones que observe el colector de la muestra. El muestreo se debe realizar paleando de afuera hacia adentro hasta lograr una mezcla completa. Se recomienda tomar de 6 a 12 puntos y mezclar para obtener la muestra final. Luego, en una bolsa plástica de cierre hermético, previamente identificada, se

coloca aproximadamente 500 g de la muestra compuesta, eliminando todo el aire que quede atrapado antes de cerrar la bolsa (Figura 2). Refrigerar las muestras si no van a ser llevadas al laboratorio inmediatamente. Lo más recomendable es no dejar las muestras almacenadas más de 24 horas, aunque estén refrigeradas.

## **Abono líquido o en suspensión**

El abono líquido o en suspensión tiene generalmente una humedad entre 80 y 95%, por lo que es mejor colectarlo en botellas plásticas o envases que puedan ser cerrados herméticamente. Hay que tener cuidado de lavar bien los envases para evitar contaminar el abono líquido. En general, el material líquido o en suspensión no se mezcla uniformemente, debido a la sedimentación y estratificación de la capa sólida y líquida. Por lo tanto, este material debería ser completamente agitado y mezclado antes de tomar la muestra.

Una vez tomada, ya sea la muestra líquida o sólida esta debe ser identificada con una etiqueta antes de ser llevada al laboratorio. En el rótulo se debe indicar nombre del productor, fecha de muestreo, composición de la muestra y análisis requerido.

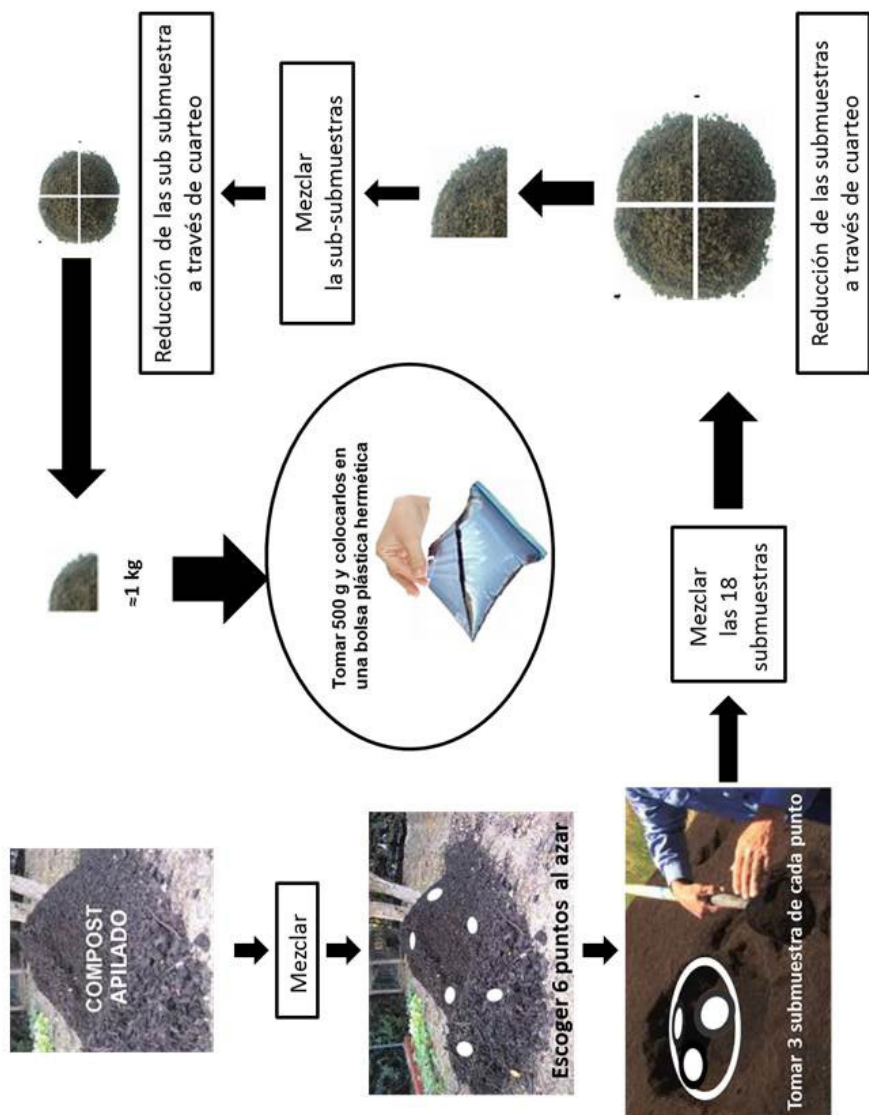


Figura 2. Pasos para obtener la muestra del abono del abono sólido.



# **Capítulo III**

## **Métodos y procedimientos recomendados para el análisis de abonos orgánicos**

### **Preparación de la muestra**

Al recibir la muestra se mezcla y divide en dos porciones. Una porción de muestra “tal como se recibió” (TCSR) se almacena a 4°C hasta la realización de los análisis microbiológicos que no debe exceder 72 h después de su ingreso. La otra porción es esterilizada y luego finamente molida (2 mm) antes de entrar al laboratorio para análisis químico.

### **Determinaciones químicas**

(Adaptado de Peters, 2003)

#### **Determinación de la Materia Seca (MS)**

El contenido de MS de un abono orgánico y de las materias primas es importante para determinar las características de manejo y conocer el contenido relativo de nutrientes. También es importante esta determinación debido a su efecto sobre la conversión de los resultados analíticos de base seca a base húmeda, ya

que muchos análisis son efectuados sobre el material seco, pero son reportados sobre la base de TCSR.

## **Principios del método**

El contenido de MS puede ser definido como el material restante después que el agua es completamente evaporada de la muestra. El secado es considerado completo cuando el peso de la muestra se mantiene constante (cambios  $<0,1\%$  MS).

## **Equipos y materiales**

- a) Balanza analítica
- b) Estufa con ajuste de temperatura de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$
- c) Desecador
- d) Capsulas de porcelana
- e) Espátula

## **Procedimiento**

1. Normalizar los recipientes (capsulas de porcelana) en estufa a  $110^{\circ}\text{C}$  por 30 min.
2. Enfriar en desecador, pesar y registrar peso (pr).
3. Antes del sub muestreo, mezclar vigorosamente toda la muestra hasta completar homogenización, minimizando el tiempo de contacto con el aire para evitar la pérdida de humedad.
4. Colocar la sub muestra (liquida, semisólida o sólida) (pmh) en el recipiente normalizado y pesado, luego colocarlo en la estufa a  $50^{\circ}$  toda la noche.
5. Enfriar en el desecador, pesar y registrar el peso (pms).

## Cálculos

El porcentaje del contenido de humedad es medido como la pérdida durante el secado y es expresado como un porcentaje de TCSR:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{pmh}+\text{pr}) - (\text{pms}+\text{pr})}{(\text{pmh}+\text{pr}) - (\text{pr})} \times 100$$

El porcentaje de MS es medido como el peso remanente de la muestra después de secada y es expresa como % de TCSR:

$$\% \text{ MS} = \frac{(\text{pms}+\text{pr}) - (\text{pr})}{(\text{pmh}+\text{pr}) - (\text{pr})} \times 100$$

Materia seca o humedad puede ser calculada también como el complemento de 100% del contenido original:

$$\% \text{ MS} = 100 - \% \text{ Humedad}$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ MS}$$

Nota: Aquellos abonos con un contenido de MS de 15% o más son considerados sólidos.

## Materia Orgánica (MO)

### Método de Combustión Seca

#### Principio del método

Se determina en la muestra libre de material inerte, seca, a 30°C y molida por pérdida de masa por calcinación a 550°C. La materia orgánica es la porción del abono orgánico que no es el agua o la ceniza.

## Equipos y materiales

- a) Cápsulas de porcelana
- b) Mufla
- c) Balanza analítica con sensibilidad  $\pm 0,1$  mg
- d) Estufa

## Procedimiento

1. Normalizar las cápsulas en la mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  por 30 min.
2. Sacar y dejar enfriar sobre una superficie adecuada durante unos minutos.
3. Introducir las cápsulas normalizadas en desecador y dejar que se enfríen totalmente, pesar y registrar el peso (pc).
4. Pesar de 0,5 a 2 g de muestra seca (pi) en las cápsulas normalizadas, registrar el peso del recipiente más el de la muestra.
5. Colocar las capsulas más las muestras secadas dentro de la mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  por 3 h para incinerar la muestra.
6. Dejar reposar dentro de la mufla por 8 h, retirar y colocar en desecador.
7. Pesar y registrar el peso (pf).

## Cálculos

La MO se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MO} = \frac{(p_i - p_f)}{(p_i - p_c)} \times 100$$

**Nota:** Repetir cada muestra por lo menos tres veces.

## Contenido de Carbono Orgánico Total (COT)

Este elemento se puede estimar sobre la base del contenido de MO de la muestra, considerando que para la mayoría de los materiales el contenido de C se encuentra en el rango de 45-60% de la fracción orgánica. Se calcula a partir de la ecuación (Haug, 1993; Golueke, 1977):

$$\% \text{ COT} = \frac{\% \text{ MO}}{1,8}$$

## Contenido de Nitrógeno total (Nt) (Adaptado de Faust *et al*, 1987)

La determinación del Nt es extremadamente importante en abono, si va a ser utilizado como una fuente de nutriente para las plantas. El método Kjeldahl ha sido usado para esta determinación en varios materiales.

### Principio del método

El principal objetivo del método es convertir el N orgánico contenido en los abonos en amonio ( $\text{N-NH}_4$ ), el cual se destila en medio alcalino, liberando el  $\text{NH}_3$  que se recibe en HCl.

### Equipos y materiales

1. Bloque digestor con manifold para la eliminación de gases
2. Destilador con trampas de reflujo y condensadores de agua
3. Buretas
4. Balanza analítica, con sensibilidad de  $\pm 0,01\text{g}$
5. Ácido sulfúrico Conc. p.a., 95-97%
6. Solución Permanganato de potasio al 2,5%

7. Hierro obtenido por reducción, p.a. (tamaño de grano:10  $\mu\text{m}$ )
8. Mezcla reactiva de Selenio, p.a. (500 partes de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 8 partes de  $\text{CuSO}_4$ , 8 partes de Selenio)
9. Solución NaOH, p.a. 50% en peso
10. Peróxido de Hidrógeno p.a. (30%)
11. Solución estándar de HCl 0,02Mc p.a.
12. Solución Estándar de NaOH 0,02Mc p.a.
13. Indicador mixto: rojo de metilo-azul de metileno; 0,25 g de azul de metileno y 0,5 g de rojo de metilo en 100 mL de alcohol 70°

## Procedimiento

1. Pesar aproximadamente 0,5 g de material sólido TCSR o pipetear 2 mL de material líquido TCSR o 1 mL cuando el material líquido este concentrado TCSR en los tubos Kjeldahl. Registrar el peso (p) o el volumen (V) de la muestra.
2. Usar un blanco en cada determinación.
3. Adicionar 1,5 g mezcla reactiva de Se y 6 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. a cada tubo.
4. Agitar el tubo para mezclar el ácido con la muestra y dejarlo toda la noche.
5. Calentar el bloque digestor a 370-400°C; no exceder de 410°C. Si la temperatura es baja ( $\pm 360^\circ\text{C}$ ) será necesario digerir la muestra por varias horas para asegurar la conversión de N orgánico a  $\text{NH}_4$ . Continuar la digestión por 1 h, después que la mezcla ha clarificado. Enfriar hasta 120-140°C.
6. Agregar algunas gotas (3 veces, 3 a 4 gotas) de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para asegurar la completa oxidación de la MO y calentar 370-400°C por espacio de 15 min.

7. Apagar el bloque digestor y dejar enfriar por 1h.
8. Preparar unos frascos de Erlenmeyer de 50 mL, adicionando 2 gotas de indicador mixto y 15 mL de HCl 0,02Mc.
9. Ubicar el frasco Erlenmeyer en el destilador, colocando el tubo colector refrigerante en su interior de manera tal que su extremo quede sumergido en la solución de HCl.
10. Conectar el tubo digestor al destilador, cerrar el cojinete de desagüe y eliminar el vapor del destilador.
11. Agregar lentamente NaOH al 50% hasta alcalinizar la muestra.
12. Destilar hasta tener en el Erlenmeyer un volumen aprox. de 40-45 mL, luego bajar el nivel del mismo hasta que el extremo del tubo colector no quede sumergido. Se continúa la destilación por espacio de 2 min.
13. Retirar el Erlenmeyer y lavar al mismo tiempo el tubo colector del destilador con agua destilada.
14. Realizar una valoración del amoniaco destilado con una solución estándar de NaOH 0,02Mc.
15. Correr un blanco a través de toda la digestión y procesos medidos.

## Cálculos

$$\% N = \frac{(A - B) \times 0,28 \times 100}{P \text{ ó } V}$$

1mL HCl 0,02Mc = 1mL NaOH 0,02Mc = 0,28 mg Nitrógeno

Donde:

A= 15 mL HCl 0,02Mc

B= mL NaOH 0,02Mc gastados en la valoración

P= Peso de muestra en mg

V= volumen de muestra en mL

## **Nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_4$ ) y nítrico ( $\text{NO}_3$ )**

(Adaptado de Faust *et al*, 1987)

El contenido de nitrógeno amoniacal en los abonos es comúnmente usado para ayudar a estimar el contenido de N rápidamente disponible, ya que el  $\text{NH}_4^+$  es la forma inorgánica primaria del nitrógeno.

### **Principio del método**

Este método determina el N mineral, basado en la extracción del amonio intercambiable por equilibrio de la muestra con KCl 2 Mc y su determinación por destilación mediante arrastre de vapor en presencia de MgO. La adición de la aleación de Devarda permite incluir la determinación de nitratos, convirtiéndolo en amonio por reducción.

### **Equipos y materiales**

1. Destilador con trampas de reflujo y condensadores de agua.
2. Buretas.
3. Balanza analítica, con sensibilidad de  $\pm 0,01\text{g}$ .
4. Solución KCl 2 Mc.
5. Óxido de magnesio p.a.
6. Aleación de Devarda, p.a. (tamaño de grano: 0,05-0,2 mm).
7. Solución estándar de HCl 0,005 Mc p.a.

8. Solución estándar de NaOH 0,005 *Mc* p.a.
9. Indicador mixto: rojo de metilo – azul de metileno; 0,250 g de azul de metileno y 0,5 g de rojo de metilo, en 100 mL de alcohol de 70°.

## Procedimiento

1. Pesar 5 g de material TCSR en un frasco Erlenmeyer de 200-250 mL.
2. Agregar 50 mL de KCl 2 *Mc* y tapar.
3. Agitar durante 1 h.

### Destilación

#### Amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> N)

4. Dejar en reposo durante 30 min. Tomar una alícuota de la solución sobrenadante (20-25 mL, con pipeta volumétrica), en un balón de 100 mL micro-Kjeldahl. Agregar ≈ 200 mg de MgO (secado previamente en mufla; ≈ 300 °C, 1 hora) y conectar al balón de destilación.
  5. Antes de agregar MgO y conectar al destilador del balón con la muestra, se debe ubicar un frasco Erlenmeyer en el aparato de destilación, el cual contiene una alícuota de HCl 0,005 *Mc* (10 mL), quedando sumergido el extremo del tubo colector en la solución.
  6. Destilar hasta tener en el frasco de titulación un volumen de 40 mL. Luego se baja el nivel, hasta que el extremo del tubo colector quede afuera y se continúa la destilación por espacio de 1 a 2 min, para lavar el interior del tubo.
  7. Retirar el frasco de titulación, lavando al mismo tiempo la parte externa del tubo colector.
- #### Nitratos (NO<sub>3</sub>-N).

8. Colocar otro frasco Erlenmeyer en el aparato de destilación exactamente igual a lo descrito en la 2<sup>da</sup> parte del paso 5.

9. Colocar 200 mg de aleación de Devarda en el balón de destilación y ponerlo en el destilador.

Nota: Repetir los pasos 6 y 7.

## Titulación

Se realizan ambas valoraciones con la solución estándar de NaOH 0,005 *Mc* en presencia del indicador mixto, hasta el viraje del mismo (color añil a verde).

## Cálculos

1 mL HCl 0,005 *Mc* = 1 mL NaOH 0,005 *Mc* = 70 µg de nitrógeno

A=mL HCl 0,005 *Mc* para recibir el NH<sub>4</sub>OH

B=mL NaOH 0,005 *Mc* utilizados en la titulación

5 g de abono en 50 mL de solución KCl. En una alícuota de 20 mL de solución utilizada para el análisis tengo 2 g abono.

$$\text{NH}_4 - \text{N} = \frac{(A-B) * 70}{2} = \frac{\mu\text{g N}}{\text{g abono}} = \text{ppm}$$

Aplicar la misma fórmula para NO<sub>3</sub>-N.

**Nota:** Para abonos líquidos, se toman directamente la alícuota de 20 mL y se siguen los pasos 4 al 10.

## **Método de digestión y disolución para P, K, Ca, Mg y elementos trazas** (Adaptado de Peters, 2003)

Para asegurar la determinación de las concentraciones de los constituyentes elementales en el abono orgánico, es necesario destruir los componentes de la materia orgánica y hacer estos elementos solubles. El método envuelve la incineración de la muestra a altas temperaturas en una mufla y luego la disolución de las cenizas remanentes en ácido.

### **Principio del método**

La muestra se calienta bajo condiciones atmosféricas normales a altas temperaturas de manera tal que la oxidación de las estructuras carbonadas ocurra. El C, N, S y agua son volatilizados de la muestra. Si la temperatura es muy alta otros elementos también pueden ser volatilizados. Las cenizas remanentes son acidificadas para asegurar la disolución de los elementos. La concentración de los diferentes elementos, dependiendo del elemento, se determina por absorción atómica (AA) espectrofotométrica o con emisión espectroscópica (ICP). En el caso del P, la determinación se hace por métodos colorimétricos.

### **Equipos y materiales**

1. Cápsulas de porcelana con tapas
2. Balanza analítica con sensibilidad de  $\pm 0,001\text{g}$
3. Mufla
4. Desecador
5. Pipetas volumétricas
6. Fiolas de 1 y 100 mL
7. Ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ ) p.a.
8. Ácido clorhídrico concentrado ( $\text{HCl}$ ) p.a.

## Procedimiento

1. La muestra debe estar seca antes de ser colocada en la mufla, ya que puede explotar violentamente dentro de la misma durante el proceso de quemado.
2. Pesar y pipetear la muestra bien mezclada dentro de las capsulas de porcelana con un estimado de 0,5 a 1,0 g de materia seca y registrar el peso (pm). Para el caso de muestras liquidas se requieren cápsulas de porcelana más grandes para acomodar el tamaño de muestra necesaria que produzca 0,5 g de muestra seca.
3. Secar la muestra de acuerdo al procedimiento especificado en la sección de la determinación de materia orgánica de este manual. Registrar el peso (pm).
4. Colocar las capsulas de porcelana con la muestra seca dentro de la mufla. Incinerar la muestra a 550°C por 4 h (sacar la muestra al siguiente día, por la alta temperatura de la mufla). Enfriar la muestra en el desecador por aproximadamente 1 h.
5. Disolver las cenizas en 10 mL de HCl y transferirlas cuantitativamente a un frasco volumétrico de 100 mL. Diluir a volumen con agua destilada y filtrar.
6. Analizar los elementos K, Ca, Mg, Na, Cu, Mn, Zn, Fe por AA o por ICP (se debe preparar una curva de calibración).

La curva de calibración debe ser preparada cada día con un mínimo de un blanco y tres estándares. Después de la calibración, la curva debe ser verificada por un estándar de referencia, el cual debe caer en la región media de la curva y el punto verificado no debe tener error mayor a 10% respecto al valor verdadero. Los valores límites para realizar la curva varían mucho, por una parte en función del material empleado para elaborar el abono, y por otra parte, por la falta de constancia en la composición química de las materias primas. Además, la detección límite del

equipo de AA que se utilice es un factor a considerar. Se sugieren algunos valores (Cuadro 2) que pueden ser usados para la realización de la curva de calibración.

**Cuadro 2. Valores sugeridos para realizar la curva de calibración para K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe y Mn para ser leídos en AA.**

| Elemento | Limites (mg/L) |
|----------|----------------|
| K        | 40 - 60        |
| Ca       | 50 - 400       |
| Mg       | 50 - 125       |
| Na       | 1 - 2          |
| Cu       | 3 - 5          |
| Fe       | 1 - 6          |
| Mn       | 1 - 3          |

**Cálculos**

$$\text{Concentración (mg/g)} = \frac{\text{Resultado de AA (mg/mL digerido)} \times \text{Volumen final}}{\text{Tamaño de la muestra}}$$

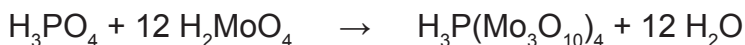
Las concentraciones determinadas por AA son reportadas sobre una base húmeda.

Para reportar los resultados sobre base seca se debe hacer la corrección, considerando el porcentaje de sólidos. Para determinar los resultados en base seca se dividen los resultados (mg/kg) en base húmeda por el % sólidos /100.

# Determinación colorimétrica de Fósforo (P)

## Principio general

La determinación de P se realiza en las soluciones digeridas. Existen varios métodos colorimétricos que pueden ser usados para la determinación. El método de vanadato-fosfomolibdato ácido, en el cual el ácido fosfórico reacciona con el molibdato ( $\text{MoO}_4^{-2}$ ) para formar el complejo fosfomolibdato de acuerdo a la reacción:



Se forma un complejo amarillo el cual se intensifica en presencia del vanadato (V). En presencia de complejos reductores, el molibdeno (Mo) en el complejo es reducido de  $6^+$  a  $3^+$  y/o  $5^+$ , el cual resulta en el característico color azul. La sensibilidad requerida, estabilidad de la solución coloreada y la liberación de interferencia son las consideraciones más importantes para seleccionar el método. El método de complejo amarillo es menos sensitivo; sin embargo, su color amarillo se mantiene por varios días y no es afectado por la temperatura del laboratorio. Además, la concentración ácida en la solución no es tan crítica para el desarrollo del color como es el caso de otros métodos.

## Principio del método

En la presencia del V, el ácido fosfomolibdato forma vanadato-fosfomolibdato ácido amarillo. La intensidad del color es proporcional a la concentración de fosfato en la solución digerida.

## Ventajas

1. Su color amarillo se mantiene estable por varios días, sin ser afectado por la temperatura ambiente.
2. El método es libre de interferencias por un amplio rango de concentración de iones (por encima de 1000 mg/L).
3. Interferencias con el arsénico (As) pueden ser eliminadas pre tratando la solución con HBr para removerlo como  $\text{AsBr}_3$ .

## Desventajas

La sensibilidad es relativamente baja -0,2 mg/L con una celda de 1 cm. Aunque la sensibilidad es mayor a longitud de onda de 400 nm, hay que tener cuidado cuando la concentración de  $\text{Fe}^{3+}$  en el digerido es mayor de 100 mg/L, puesto que interfiere a esta longitud de onda, por lo tanto se debe usar 470 nm.

**Cuadro 3. Determinación de la longitud de onda dependiendo de la sensibilidad deseada.**

| Rango de P (mg/L) | Longitud de onda (nm) |
|-------------------|-----------------------|
| 1,0 – 5,0         | 400                   |
| 2,0 – 10          | 420                   |
| 4,8 – 18          | 470                   |

## Reactivos

1. Agua destilada.
2. Molibdato de amonio  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ . Solución A: disuelva 25 g de  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$  p.a. en 400 mL de agua destilada.
3. Vanadato de amonio  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ . Solución B: disuelva 1,25 g de  $(\text{NH}_4)\text{VO}_3$  p.a. en 300 mL de agua destilada, permita enfriar a temperatura ambiente.

4. Mezclar de los reactivos. Transferir la Solución B a un balón aforado de 1 L y lentamente adicionar 250 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado (15,8 Mc) con agitación rápida. Permitir que la solución se enfríe a temperatura ambiente. Luego adicionar la Solución A, diluir la mezcla a volumen.
5. Ácido sulfúrico 3,5 MC. Lentamente adicionar 194 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (18 Mc) en un balón aforado de un litro y diluir a volumen con agua destilada, dejar que se enfríe a temperatura ambiente.
6. Solución de trabajo de fosfato: 50 mg P/L. Disolver 0,2197 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (previamente secado en el horno a 40 °C) en agua destilada. Adicionar 25 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (3,5 Mc) y diluir a 1 L.

## Procedimiento

1. Pipetear 15 mL o menos de una muestra digerida de 0,05 a 1 mg de P dentro de un balón aforado de 50 mL. Adicionar 10 mL de reactivo de vanadato-molibdato y llevar a volumen con agua destilada. Después de 10 min o más, medir la absorbancia del blanco y de las muestras a una longitud de onda de 400 a 490 nm, dependiendo de la sensibilidad requerida. Sustraer la absorbancia del blanco de las muestras.
2. Preparación de las curvas de calibración: la curva debe ser preparada cada día con un mínimo de un blanco y cuatro estándares. Para la preparación de la curva se utiliza una solución estándar de P. Pipetear los diferentes volúmenes de solución estándar dentro de los balones aforados de 50 mL (seguir procedimiento de las muestras).

## Cálculos

Las concentraciones de P (mg/L) obtenidas son utilizadas para calcular la concentración inicial en el compost o materias primas para el compostaje.

$$P \text{ (mg/L)} = P(a.c) \text{ mg/L} * (15 \text{ mL o menos}) * (50 \text{ mL}) \text{ vol.total}$$

$$P \text{ (mg/kg)} = \frac{P \text{ (mg/L)} * 0,1 \text{ L}}{\text{Tamaño muestra (kg)}}$$

## Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)

(Harada e Inoko, 1980)

La Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) es una medida de la capacidad de un compost para retener cationes intercambiables como el potasio (K), el calcio (Ca), el magnesio (Mg) y el sodio (Na) sobre superficies cargadas negativamente.

### Principio del método

Este método tiene tres pasos: el primero es una saturación de la muestra con amonio por medio de un lavado con  $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; el segundo es la remoción del exceso de la solución de  $\text{NH}_4\text{OAc}$  por medio de un lavado con alcohol y el tercero es una destilación del  $\text{NH}_4^+$  y su posterior titulación.

### Reactivos

1. Agua destilada.
2. Ácido clorhídrico (HCl) 0,05 Mc.
3. Acetato de bario  $[\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$  0,5 Mc, pH 7. Disolver 127,7 g de acetato de bario en agua destilada. Ajustar pH 7 usando ac. acético y/o solución de hidróxido de bario.

4. Hidróxido de sodio (NaOH), 0,05 *Mc*.
5. Indicador azul de tymol. Triturar 1 g de tymol (forma ácida) en un mortero de vidrio limpio con 21,5 mL de NaOH 0,1 *Mc* y diluir a 1 L con agua destilada.

## Procedimiento

1. Colocar 0,2 g de muestra de compost tamizado a 0,75 mm (aproximadamente 25 mesh) dentro de un embudo con un filtro de vidrio sinterizado (porosidad 3, 16-40  $\mu\text{m}$ ), equipado con un tubo de goma con abrazadera.
2. Adicionar 25 mL de solución de HCl 0,05 *Mc* y agitar de forma intermitente con una varilla de vidrio por 20 minutos. Abrir la pinza de apriete y filtrar con succión.
3. Añadir 25 mL de solución de HCl 0,05 *Mc* y filtrar nuevamente.
4. Lavar con adiciones sucesivas de agua destilada hasta que el lavado este libre de cloruro (cerca de 150 mL) que se indica por la ausencia de un precipitado blanco o turbidez sobre la adición de solución de nitrato de plata.
5. Cerrar la pinza de apriete, añadir 25 mL de solución de  $\text{Ba}(\text{OAc})_2$  0,5 *Mc* (ajustados a pH 7,0), y dejar reposar por 1 h.
6. Filtrar y retener el filtrado y añadir otros 25 mL de solución  $\text{Ba}(\text{OAc})_2$  0,5 *Mc*, filtrar de nuevo.
7. Lavar la muestra completamente con agua destilada (alrededor de 150 mL) y combinar lavado con filtrado, los cuales son titulados con solución NaOH 0,05 *Mc*. Este puede ser realizado por titulación usando azul de Tymol (cambia de amarillo a azul). Se debe titular un blanco con la misma cantidad de solución  $\text{Ba}(\text{OAc})_2$  0,5 *Mc*. La diferencia entre los dos valores de titulación es equivalente al  $\text{H}^+$  desplazado de la muestra por el  $\text{Ba}^{+2}$  de la CIC.

## Cálculos

Si el titulado de NaOH 0,05 *Mc* es *y* mL, entonces:

$y = N^{\circ} \text{ moles} = (y \cdot 0,05) \cdot 10^{-3}$ , el cual por monovalente  $\text{Na}^+$  es también el  $N^{\circ} \text{ mol}_c$ .

$(y \cdot 0,05) \cdot 10^{-3} \text{ mol}_c = 5y \cdot 10^{-5} \text{ mol}_c$  por 0,2 g de muestra seca.

$$\frac{5y \cdot 10^{-5}}{0,2 \text{ g}} = 25y \cdot 10^{-5} \text{ mol}_c / \text{g} = 25y \text{ cmol}_c / \text{Kg} = 25y \text{ mEq} / 100 \text{ g materia seca}$$

## pH y Conductividad Eléctrica (CE)

Ambos parámetros se determinan en el extracto acuoso de una muestra fresca. Para la obtención del extracto acuoso, las proporciones muestra: agua más comúnmente utilizadas son 1:5 y 1:25.

## Procedimiento (materiales y equipos)

### Preparación 1:5

1. Pesar 10 g de muestra en balanza digital (precisión 0,01 g).
2. Introducir en Erlenmeyer de 250 mL junto con 50 mL de agua destilada.
3. Agitar durante 30 min en agitador mecánico.
4. Centrifugar el sobrenadante durante 15 min a 3000 rpm y luego filtrar.

## **Medida del pH**

Se utiliza el método del potenciómetro (con electrodo de vidrio o combinado), previamente calibrado, sumergiendo el electrodo en el extracto acuoso.

## **Medida de la CE**

Se realiza la lectura de CE con el conductímetro, previamente calibrado, sumergiendo el electrodo en el extracto acuoso.

## **Determinaciones de bacterias coliformes totales y fecales** (Adaptado de Turco, 1994)

La prueba presuntiva de coliformes totales representa un indicador de la presencia de todos los coliformes (bacterias lactosa-positiva). Antes de la detección y enumeración de los coliformes fecales es necesario hacer pruebas de presencia de coliformes totales; en caso de dar esta prueba negativa, es indicativo de ausencia de coliformes fecales.

El método consiste en inocular volúmenes conocidos de muestras y/o sus diluciones, en 3 tubos de ensayo con tubos de fermentación incorporados y un medio de cultivo apropiado. Después del período de incubación y a la temperatura correspondiente, se toma nota de los tubos que presentan formación de gas y se obtiene el número más probable (NMP) de bacterias coliformes totales utilizando tablas estandarizadas. La confirmación de bacterias coliformes fecales se realiza en un medio de cultivo selectivo adecuado y se obtiene el número más probable (NMP) de bacterias coliformes fecales utilizando tablas estandarizadas.

# **Definiciones**

## **Asepsia**

Es la exclusión continua de microorganismos contaminantes.

## **Cepa**

Conjunto de individuos de una misma especie existente en una colonia o cultivo.

## **Coliformes**

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación.

## **Coliformes fecales**

Grupo bacteriano presente en los intestinos de los mamíferos vertebrados. Son fáciles de identificar y contar en laboratorio por su capacidad de fermentar la lactosa.

## **NMP**

Número más probable: sirve para estimar el tamaño de la población de bacterias de coliformes fecales.

## **Tubos Durham**

Es una campana de fermentación.

# Instrucciones de Seguridad

1. El personal que ejecuta el ensayo debe utilizar los siguientes elementos de protección: guantes y bata.
2. Se debe mantener la asepsia en todas las operaciones para evitar contaminación de la muestra o de los medios de cultivo utilizados; para ello es necesario manipular muestras, diluciones y otras operaciones en cámara de flujo laminar.
3. El operario debe lavarse las manos antes y después de cada operación.

## Equipos

1. Incubadora: con rango de temperatura entre 20 y 50 °C.
2. Cámara de flujo laminar.
3. pHmetro: con resolución de al menos 0,01 unidades de pH.
4. Agitador mecánico: con velocidad entre 100-1000 rpm.
5. Agitador mecánico de tubos: tipo vortex
6. Baño de agua: con rango de temperatura entre ambiente y 50 °C.
7. Balanza: con resolución de al menos 0,01 g.
8. Plancha de agitación: con calentamiento hasta 100 °C.
9. Dispensador automático: de 10 mL con volumen variable.
10. Autoclave: de vapor capaz de operar a 1,05 kg/cm<sup>2</sup> y 121 °C.

## Materiales

1. Frascos de dilución de boca ancha de 160 mL.
2. Tubos de dilución con tapa.

3. Tubos de fermentación.
4. Pipetas volumétricas de 100 mL.
5. Tubos Durham o de fermentación de 10 x 75 mm.
6. Gradilla para soporte de tubos.
7. Asa de platino.
8. Espátula.
9. Tamiz de 4000 micrones.
10. Pipetas automáticas de 1 mL, con exactitud de al menos 10%.
11. Puntas para la pipeta automática.
12. Balón aforado de 1000 mL.
13. Erlenmeyer de 1 o de 2 L.
14. Beaker de 50 mL.

## Reactivos

1. Triptosa grado p.a.
2. Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) grado p.a.
3. Fosfato de potasio monobásico anhidro ( $KH_2PO_4$ ) grado p.a.
4. Fosfato de potasio dibásico anhidro ( $K_2HPO_4$ ) grado p.a.
5. Cloruro de sodio (NaCl) grado p.a.
6. Sales de bilis grado p.a.
7. Lauril sulfato de sodio grado p.a.
8. Solución comercial de ácido clorhídrico (HCl) nominal 1 *Mc* o 0,1 *Mc* (Titrisol o equivalente).
9. Solución comercial de hidróxido de sodio (NaOH) nominal 1 *Mc* o 0,1 *Mc* (Titrisol o equivalente).
10. Agua destilada.

## **Patrones**

Cepas *E. coli*

## **Soluciones de trabajo / Medios de cultivo**

### **Solución de ácido clorhídrico (HCl) 1 Mc**

Transferir cuantitativamente el contenido de una ampolla comercial de HCl 1 Mc a un balón aforado de 1 L. Completar hasta el volumen de aforo con agua destilada.

### **Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0,1 Mc**

1. Si se dispone de ampolla comercial de HCl 0,1 Mc, transferir cuantitativamente el contenido de la ampolla a un balón aforado de 1 L. Completar hasta el volumen de aforo con agua destilada.
2. Si no se dispone de ampolla comercial de HCl 0,1 Mc tomar, con pipeta volumétrica, 100 mL de la solución de HCl 1Mc anteriormente preparada y transferir a un balón aforado de 1 L. Completar hasta el volumen de aforo con agua destilada.

### **Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1Mc**

Transferir cuantitativamente el contenido de una ampolla comercial de NaOH 1 Mc a un balón aforado de 1 L. Completar hasta el volumen de aforo con agua destilada.

### **Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 Mc**

1. Si se dispone de ampolla comercial de NaOH 0,1 Mc, transferir cuantitativamente el contenido de la ampolla a un balón aforado de 1 L. Completar hasta el volumen de aforo con agua destilada.

2. Si no se dispone de ampolla comercial de NaOH 0,1Mc tomar, con pipeta volumétrica, 100 mL de la solución de NaOH 1Mc anteriormente preparada y transferir a un balón aforado de 1L. Completar hasta el volumen de aforo con agua destilada.

### **Solución fisiológica salina (diluyente)**

1. Pesar  $8,50 \pm 0,01$  g de cloruro de sodio (NaCl).
2. Transferir cuantitativamente el NaCl a un balón aforado de 1 L y disuélvalo en agua destilada esterilizada.
3. Aforar al volumen de 1 L.
4. Agitar para homogenizar.
5. Mantener tapado y a temperatura ambiente.
6. Tomar un frasco de dilución de boca ancha y una gradilla con 5 tubos de dilución.
7. Agregar 90 mL aproximadamente de solución diluyente al frasco de dilución.
8. Agregar 9 mL aproximadamente de solución diluyente a cada tubo de dilución.
9. Esterilizar el frasco y los tubos de dilución en autoclave a  $1,05 \text{ kg/cm}^2$  y  $121^\circ\text{C}$ .

### **Caldo Lauril Triptosa (CLT):**

1. En un beaker de 50 mL pesar los reactivos y transferirlos cuantitativamente, uno a uno, a un frasco Erlenmeyer de 1 o 2 L: aproximadamente 20 g de triptosa, 5 g de lactosa,  $2,75 \text{ g de KH}_2\text{PO}_4$ , 5 g de NaCl y 0,1 g de lauril sulfato de sodio.
2. Agregar agua destilada al frasco Erlenmeyer hasta completar aproximadamente 800 mL.

3. Con la ayuda del pHmetro, ajustar el pH a 6,8 con NaOH 1 Mc o 0,1 Mc, o con HCl 1Mc o 0,1 Mc.
4. Completar hasta aproximadamente 1000 mL con agua destilada.
5. Tomar una gradilla con 18 tubos de fermentación.
6. Agregar 9 mL aproximadamente de caldo CLT a cada tubo de fermentación, conteniendo tubos Durham invertidos. Tapar los tubos.
7. Asegurarse que los tubos insertados estén cubiertos con el medio.
8. Esterilizar los tubos con el caldo CLT en autoclave a 1,05 kg/cm<sup>2</sup> y 121 °C.

## **Medio de Complejo Enzimático (EC)**

1. En un beaker de 50 mL pesar los siguientes reactivos y transferir cuantitativamente, uno a uno, a un frasco Erlenmeyer de 1 o 2 L: aproximadamente 20 g de triptosa, 5 g de lactosa, 31,5 g de sales de bilis, 4 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,5 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 5,0 g de NaCl.
2. Agregar agua destilada al frasco Erlenmeyer hasta completar aproximadamente 800 mL.
3. Con la ayuda del pHmetro, ajustar el pH a 6,8 con NaOH 1Mc o 0,1Mc, o con HCl 1Mc o 0,1Mc.
4. Completar hasta aproximadamente 1000 mL con agua destilada.
5. Tomar una gradilla con 18 tubos de fermentación.
6. Agregar 9 mL aproximadamente de caldo EC a cada tubo de fermentación, conteniendo tubos Durham invertidos. Tape los tubos.
7. Asegurarse que los tubos insertados estén cubiertos con el medio.
8. Esterilizar los tubos con el caldo EC en autoclave a 1,05 kg/cm<sup>2</sup> y 121 °C.

## **Preparación**

### **Acondicionamiento de la muestra**

Homogenizar la muestra de abono recibida aplicando los siguientes pasos:

1. Tomar aproximadamente 200 mg de muestra de abono “tal como se recibió” (TCSR).
2. Mezclar la muestra con la ayuda de una espátula.
3. En caso de ser necesario, pasar la muestra por un tamiz de 4000  $\mu$  y conservar la muestra cernida para proseguir con el ensayo. Utilizar esta muestra inmediatamente.
4. Identificar la muestra.

### **Preparación de equipos**

Asegurarse que la cámara de flujo laminar este limpia y en condiciones asépticas. (Un día previo al análisis limpiar con algodón y etanol, utilizar luz UV al menos 10 minutos).

### **Determinación de la humedad de las muestras de abono orgánico**

Para la determinación del contenido de humedad de las muestras de abono ver aparte de análisis químico de abonos orgánicos de este manual.

### **Preparación de las diluciones**

1. A partir de la muestra acondicionada, pesar una submuestra de  $10,0 \pm 0,1$  g de muestra TCSR.
2. Trasvasar la muestra al frasco de dilución de boca ancha que contiene 90 mL aproximadamente de solución

diluyente. Tapar el frasco y agitar manualmente por 1 minuto aproximadamente. Asegurarse que el frasco esté bien cerrado y colocar en posición horizontal sobre el agitador mecánico por 10 minutos a 1000 rpm aproximadamente. Remover el frasco con la suspensión de muestra del agitador (esta constituye la dilución  $10^{-1}$ ).

2. Tomar la gradilla con los 5 tubos de dilución que contiene cada uno 9 mL aproximadamente de solución diluyente e identifique los tubos con el código de la muestra y la dilución de muestra que será preparada.

Preparar en la cámara de flujo laminar las siguientes diluciones secuenciales a partir de la solución  $10^{-1}$ :

### **Dilución $10^{-2}$**

1. Con la ayuda de una pipeta esterilizada, tomar 1 mL de la dilución  $10^{-1}$  y transferir al tubo identificado para esta dilución que contiene 9 mL aproximadamente de solución diluyente.
2. Tapar el tubo y agitarlo manualmente, o con un agitador mecánico de tubos: tipo vortex, por 1 minuto aproximadamente.

### **Dilución $10^{-3}$**

1. Con la ayuda de otra pipeta esterilizada, tomar 1 mL de la dilución  $10^{-2}$  y transferir al tubo identificado para esta dilución que contiene 9 mL aproximadamente de solución diluyente.
2. Tape el tubo y agitarlo manualmente, o con un agitador mecánico, por 1 minuto aproximadamente.
3. Preparar las diluciones  $10^{-4}$  a  $10^{-6}$  repitiendo el mismo procedimiento seguido para las diluciones ya preparadas.

## Detección de coliformes totales

1. Tomar 18 tubos de fermentación con caldo CLT y disponerlos en una gradilla en seis series (tres tubos por serie).
2. Con una pipeta estéril, transferir  $1,0 \pm 0,1$  mL de la dilución de suelo  $10^{-6}$  a cada uno de los tubos de la primera serie de CLT.
3. Repetir el procedimiento descrito en paso 2 para transferir las diluciones restantes ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ ) a las series correspondientes de CLT. Nota: utilizar la misma punta de pipeta para los 3 tubos de la misma dilución.
4. Transferir la gradilla con los tubos a un baño de agua e incubar a  $35 \pm 1$  °C por  $24 \pm 1$  horas. Nota: el agua del baño debe cubrir todo el medio contenido en el tubo.
5. Finalizado este período, sin retirar la gradilla del baño, agitar suavemente cada tubo y observar la producción de gas.
6. Considerar como tubos positivos aquellos que evidencien presencia de gas en el tubo Durham.

Los tubos que fueron considerados positivos se registran y se procede al paso confirmación de coliformes fecales.

Considerar como tubos negativos aquellos que no mostraron formación de gas y regresarlos a la gradilla para su incubación a  $35 \pm 1$  °C por  $24 \pm 1$  h adicional.

Completado el tiempo adicional de incubación, proceder a observar nuevamente la presencia de gas y considerar como tubos positivos aquellos que presenten gas en el tubo Durham.

Registrar los tubos positivos y negativos a la temperatura de incubación indicada. Con los tubos que fueron considerados positivos se procede al paso de confirmación de coliformes fecales.

Registrar el número de tubos confirmados como positivos y determinar el NMP como se indica en el Formato de registro de datos y resultados determinación de coliformes totales y fecales (Anexo 1).

## **Confirmación de coliformes fecales**

1. Tomar los tubos de fermentación con caldo EC y disponer en una gradilla. Tomar tantos tubos con EC como tubos positivos con gas en los tubos de Durham.
2. Con la ayuda de un asa de platino, inocular de cada tubo positivo a los tubos que contienen el caldo EC, previamente identificados con su serie y dilución.
3. Incubar a  $45 \pm 1$  °C durante  $24 \pm 1$  h.
4. Finalizado el período de incubación, observar la producción de gas en cada tubo.
5. Considerar como tubos positivos aquellos que evidencien presencia de gas en el tubo Durham.

Registrar el número de tubos confirmados como positivos y determinar el NMP como se indica en el Formato de registro de datos y resultados determinación de coliformes totales y fecales (Anexo 1).

## **Número Más Probable, NMP (Adaptado de Woomar, 1994)**

El valor del Número Más Probable (NMP) se puede calcular mediante tablas para un número cualquiera de tubos positivos a cualquier dilución. La utilización de la Tabla del NMP (Anexo 2) requiere la reducción del resultado a tres diluciones seriadas o decimales, tomando en consideración los siguientes puntos:

1. Remover la dilución más alta (la que contiene la menor cantidad de muestra) que tenga todos los tubos negativos. Si la siguiente dilución también tiene todos los tubos

negativos, igualmente se descarta. Continuar de esta manera mientras esta condición se mantenga y resten al menos cuatro diluciones.

2. Si en el punto anterior quedan solamente tres diluciones, tomar estas tres y buscar el valor del NMP en el Anexo 2.
3. Si en el paso 1 quedan más de tres diluciones, ubicar la dilución más alta con todos los tubos positivos. Aquí se pueden presentar tres casos:
  - a. Primer caso: La dilución más alta con todos los tubos positivos está dentro de las tres diluciones más altas restantes. En este caso, utilizar las tres diluciones restantes a partir de la que tiene todos los tubos positivos para buscar el valor del NMP en el Anexo 2.
  - b. Segundo caso: La dilución más alta con todos los tubos positivos no está dentro de las tres diluciones restantes más altas. Entonces, seleccionar las tres diluciones más altas siguientes a la dilución más alta con todos los tubos positivos para buscar el valor del NMP en el Anexo 2.
  - c. Tercer caso: No hay dilución con todos los tubos positivos. En este caso, seleccionar las dos diluciones más bajas que tengan la mayor cantidad de tubos positivos y la siguiente dilución. Con estas tres diluciones buscar el valor del NMP en el Anexo 2.
4. Cuando las diluciones no son hasta la extinción (hay tubos positivos en todas las diluciones), ubicar la dilución que tiene todos los tubos positivos. Si esta dilución está entre dos diluciones que tienen tubos positivos, tomar estas tres diluciones para buscar el valor del NMP en el Anexo 2.
5. Si las tres diluciones seleccionadas no están en la Tabla del NMP (Anexo 2) probablemente ocurrió algo inusual en la dilución seriada, y es una advertencia que el resultado es improbable y que pudieran cuestionar los

supuestos básicos del NMP. La recomendación es repetir nuevamente el ensayo. Si no es posible repetir el ensayo y se decide continuar con la búsqueda del valor del NMP, utilizar las tres diluciones restantes más altas para buscar el valor del NMP en la Tabla. Si estas diluciones tampoco están en la Tabla, entonces utilizar la dilución más alta con cualquier tubo positivo.

6. Corrección del NMP leído en la Tabla para obtener el NMP/ g suelo seco.

El valor del NMP leído en la Tabla del NMP (Anexo 2) se debe corregir por la dilución, la cantidad de muestra y la humedad del suelo:

$$\text{NMP/g} = \frac{\text{NMP}}{\text{PSs} \times \text{DiL}}$$

Donde:

NMP = Número Más Probable obtenido de la Tabla.

Dil. = Dilución intermedia del grupo de 3 tubos con los que se realizó la lectura en la Tabla.

PSs = Peso de muestra seca, en gramos.

Los resultados de NMP de bacterias coliformes totales y fecales se expresan en NMP/g material seco:

$$\text{NMP/g} = \frac{\text{NMP}}{\text{g material seco}}$$

**Anexo 1. Formato de registro de datos y resultados determinación de coliformes totales y fecales.**

| <b>CENTRO</b>               |              | <b>LABORATORIO</b>        |          |                    |          | <b>PAGINA</b> ____ <b>DE</b> ____ |                           |                    |                        |
|-----------------------------|--------------|---------------------------|----------|--------------------|----------|-----------------------------------|---------------------------|--------------------|------------------------|
| <b>EQUIPOS / CODIGOS</b>    |              |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>FECHA</b>                |              | <b>CÓDIGO</b>             |          |                    |          | <b>DESCRIPCIÓN</b>                |                           |                    |                        |
|                             |              |                           |          |                    |          | <b>MUESTRA #</b>                  |                           |                    |                        |
|                             |              |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>TUBOS</b> | <b>COLIFORMES TOTALES</b> |          |                    |          | <b>TUBOS POSITIVOS</b>            | <b>COLIFORMES FECALES</b> |                    | <b>TUBOS POSITIVOS</b> |
|                             |              | <b>24 h a 35°C</b>        |          | <b>48 h a 35°C</b> |          |                                   | <b>48 h a 45°C</b>        |                    |                        |
|                             |              | <b>+</b>                  | <b>-</b> | <b>+</b>           | <b>-</b> |                                   | <b>+</b>                  | <b>-</b>           |                        |
| <b>1<sup>ERA</sup></b>      | <b>1</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>2</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>DIL. 10<sup>-1</sup></b> | <b>3</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>2<sup>DA</sup></b>       | <b>1</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>2</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>DIL. 10<sup>-2</sup></b> | <b>3</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>3<sup>ERA</sup></b>      | <b>1</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>2</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>DIL. 10<sup>-3</sup></b> | <b>3</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>4<sup>TA</sup></b>       | <b>1</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>2</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>DIL. 10<sup>-4</sup></b> | <b>3</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>5<sup>TA</sup></b>       | <b>1</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>2</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>DIL. 10<sup>-5</sup></b> | <b>3</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>6<sup>TA</sup></b>       | <b>1</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>SERIE</b>                | <b>2</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
| <b>DIL. 10<sup>-6</sup></b> | <b>3</b>     |                           |          |                    |          |                                   |                           |                    |                        |
|                             |              |                           |          |                    |          | <b>NMP/g</b>                      |                           | <b>NM P/g</b>      |                        |
| <b>Realizado por:</b>       |              |                           |          |                    |          | <b>Revisado por:</b>              |                           |                    |                        |
| <b>NOMBRE:</b>              |              | <b>FECHA</b>              |          | <b>FIRMA</b>       |          | <b>NOMBRE:</b>                    |                           | <b>FECHA FIRMA</b> |                        |

**Anexo 2. Número Más Probable (NMP) por gramo e intervalos de 95% de confianza, para el ensayo con 3 tubos cada uno a 0,1; 0,01 y 0,001 g inóculo.**

| Positivos | NMP/g |      |       | Límite de Confianza |          | Positivos |      |       | NMP/g    |          | Límite de confianza |          |
|-----------|-------|------|-------|---------------------|----------|-----------|------|-------|----------|----------|---------------------|----------|
|           | 0,10  | 0,01 | 0,001 | inferior            | superior | 0,10      | 0,01 | 0,001 | inferior | superior | inferior            | superior |
| 0         | 0     | 0    | 0     | --                  | 9,5      | 2         | 2    | 0     | 21       | 4,5      | 42                  |          |
| 0         | 0     | 1    | 3,0   | 0,15                | 9,6      | 2         | 2    | 1     | 28       | 8,7      | 94                  |          |
| 0         | 1     | 0    | 3,0   | 0,15                | 11       | 2         | 2    | 2     | 35       | 8,7      | 94                  |          |
| 0         | 1     | 1    | 6,1   | 1,2                 | 18       | 2         | 3    | 0     | 29       | 8,7      | 94                  |          |
| 0         | 2     | 0    | 6,2   | 1,2                 | 18       | 2         | 3    | 1     | 36       | 8,7      | 94                  |          |
| 0         | 3     | 0    | 9,4   | 3,6                 | 38       | 3         | 0    | 0     | 23       | 4,6      | 94                  |          |
| 1         | 0     | 0    | 3,6   | 0,17                | 18       | 3         | 0    | 1     | 38       | 8,7      | 110                 |          |
| 1         | 0     | 1    | 7,2   | 1,3                 | 18       | 3         | 0    | 2     | 64       | 17       | 180                 |          |
| 1         | 0     | 2    | 11    | 3,6                 | 38       | 3         | 1    | 0     | 43       | 9        | 180                 |          |
| 1         | 1     | 0    | 7,4   | 1,3                 | 20       | 3         | 1    | 1     | 75       | 17       | 200                 |          |
| 1         | 1     | 1    | 11    | 3,6                 | 38       | 3         | 1    | 2     | 120      | 37       | 420                 |          |
| 1         | 2     | 0    | 11    | 3,6                 | 42       | 3         | 1    | 3     | 160      | 40       | 420                 |          |
| 1         | 2     | 1    | 15    | 4,5                 | 42       | 3         | 2    | 0     | 93       | 18       | 420                 |          |
| 1         | 3     | 0    | 16    | 4,5                 | 42       | 3         | 2    | 1     | 150      | 37       | 420                 |          |
| 2         | 0     | 0    | 9,2   | 1,4                 | 38       | 3         | 2    | 2     | 210      | 40       | 430                 |          |
| 2         | 0     | 1    | 14    | 3,6                 | 42       | 3         | 2    | 3     | 290      | 90       | 1.000               |          |
| 2         | 0     | 2    | 20    | 4,5                 | 42       | 3         | 3    | 0     | 240      | 42       | 1.000               |          |
| 2         | 1     | 0    | 15    | 3,7                 | 42       | 3         | 3    | 1     | 460      | 90       | 2.000               |          |
| 2         | 1     | 1    | 20    | 4,5                 | 42       | 3         | 3    | 2     | 1.100    | 180      | 4.100               |          |
| 2         | 1     | 2    | 27    | 8,7                 | 94       | 3         | 3    | 3     | >1.100   | 420      | --                  |          |

# Capítulo IV

## Cálculos de las tasas de aplicación de los abonos

Los abonos orgánicos pueden cubrir las necesidades de N y P de los cultivos; sin embargo, esta suplencia va a depender del manejo a que sean sometidos. El contenido de N de las compostas varía dependiendo a las mezclas de los materiales, el tipo de proceso a que son sometidos y el compostaje. Este contenido puede variar entre 0,8-5% (Soto y Meléndez, 2004) y la tasa de mineralización del nitrógeno en un rango de 10 a 85%, por lo cual sólo una fracción del N y otros nutrimentos está disponible el primer año después de su aplicación. El nitrógeno presente en los abonos se puede dividir en tres fracciones:

1. N mineral (Ni) el cual es directamente asimilable por las plantas; su eficiencia sería del 100%, pero puede sufrir pérdidas en la aplicación del abono al terreno.
2. Nitrógeno orgánico mineralizable el primer año: Es la parte del nitrógeno orgánico que durante el primer año va a pasar a forma mineral, este sufre pérdidas durante los períodos en que los cultivos no están en producción.
3. Nitrógeno orgánico mineralizable en años sucesivos: Es aquel nitrógeno orgánico que en condiciones ambientales favorables se va a ir mineralizando lentamente y que también puede sufrir pérdidas en los períodos en los que los cultivos no están en producción.

Como regla general se espera que 25 a 30% del N orgánico contenido en el abono sea disponible el primer año de aplicación,

quedando el remanente disponible para los siguientes tres años a una tasa decreciente. La tasa de aplicación de las compostas anual depende de la cantidad de N inorgánico disponible y de la cantidad de N orgánico que será disponible gradualmente. Para esto, es necesario un análisis del abono y uno de suelo donde se va a aplicar la fertilización. En algunos casos, es necesario aplicar algo de fertilización química para asegurar que el cultivo tenga suficientes nutrientes en la germinación. El fósforo total en los abonos orgánicos está también compuesto por dos componentes (ortofosfato y fósforo orgánico). Sin embargo, aunque ambas formas son esenciales e inmediatamente disponibles para las plantas, no es necesario determinar ambas formas, como es el caso del nitrógeno.

## **Estrategias de manejo**

Es necesario el desarrollo de un programa que integre consideraciones que cuantifiquen los nutrientes y su manejo de modo de cubrir los requerimientos de los cultivos. Por lo tanto, el programa debería incluir:

1. Análisis del abono orgánico.
2. Análisis de suelo para determinar su N inorgánico.
3. Método de aplicación: debido a que la volatilización representa un medio importante de pérdida de N, la técnica de aplicación de abono orgánico es trascendental en la conservación del elemento en el suelo. Por lo general, la evaluación de los métodos de aplicación está basada en: costo, nivel de perturbación del suelo, nivel de pérdida de nutriente y olor. En el Cuadro 4 se presentan las ventajas y desventajas de los diferentes métodos de aplicación.
4. Tiempo de aplicación: aplicar tan cerca de la siembra como sea posible para minimizar riesgos de pérdida de nutrientes por escorrentía, volatilización y lavado.

5. Calcular la tasa de aplicación, esta deberá ser basada en los nutrientes que estarían en el suelo en mayor cantidad (N y P).

La siguiente Hoja de cálculo sirve como guía para obtener la tasa de aplicación de una composta, manteniendo en mente que la fertilización debe estar de acuerdo con la necesidad del cultivo.

**Cuadro 4. Ventajas y desventajas de los diferentes métodos de aplicación de abonos orgánicos.**

| Método de aplicación                         | Ventajas                                                                                                                         | Desventajas                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Aplicación al voleo sin incorporación        | Relativamente económico                                                                                                          | Con abono como estiércoles sin compostar resulta considerablemente alto en malos olores.                                                                                                                                                |
| Con incorporación                            | Incorporar tan pronto sea posible para reducir la pérdida de nutrientes y minimizar el olor                                      | Cuando se utiliza estercolera aumenta el riesgo de compactación del suelo debido al intenso tráfico de maquinaria. Pérdida de nutrientes debido a la volatilización del $\text{NH}_4\text{-N}$ y escorrentía.                           |
| Irrigación                                   | Puede ser aplicado sobre un suelo con condiciones húmedas. Relativamente económico. Debe ser incorporado inmediatamente.         | La pérdida de nutrientes y la producción de olor son más altas que con otros métodos de aplicación.                                                                                                                                     |
| Directa inyección del abono dentro del suelo | El nutriente es puesto directamente en la zona radicular. Resulta en poco o no pérdida de nutrientes. Mínima producción de olor. | Este tipo de inyectores resulta en alta perturbación del suelo, haciéndolos inaceptables para unidades de forrajes permanentes o campos de cultivos con no labranza. Equipos costosos, consumidores de tiempo, gasolina y horas hombre. |

# Ejemplo de cálculos de la tasa de aplicación basada en análisis de estiércol para una aplicación de gallinaza

Se dispone de una gallinaza seca para ser utilizada como fertilizante que cubra los requerimientos de N y P para una siembra de maíz, donde se hace rotación con caraota (primer año). Los requerimientos del cultivo de maíz para N y P son 120 y 70 kg/ha, respectivamente. Los cálculos que se indican a continuación se describen en Espinoza y Gil (2004).

**Paso 1.** Calcular la cantidad de cada componente en la gallinaza basado en el peso húmedo kg de N o P / kg de abono:

| Componente Nitrogenado                     | Concentración del componente |
|--------------------------------------------|------------------------------|
| Nitrógeno total ( $N_t$ )                  | 0,03                         |
| Nitrógeno - Amonio ( $NH_4-N$ )            | 0,000650                     |
| Nitrógeno - Nitrato ( $NO_3-N$ )           | 0,000180                     |
| N inorgánico ( $N_i$ ) = $NH_4-N + NO_3-N$ | 0,000830                     |
| Fosforo total (P)                          | 0,010                        |
| Ortofosfato ( $P_2O_5$ )                   | 0,023                        |

Nitrógeno orgánico ( $N_o$ ) es determinado por diferencia entre:

$$N_o = N_t - N_i = 0,0292 \text{ kg N/kg}$$

Para  $N_i$ : Convertir la concentración de % a kg N /kg abono.

Para  $N_i$ : Convertir la concentración de ppm a kg N /kg abono.

**Paso 2.** Calcular la cantidad de amonio disponible ( $NH_4$  disp.). La fracción disponible (F) es dependiente de las operaciones del sitio donde se va a aplicar (Cuadro 5):

$$NH_4 \text{ disp} = NH_4\text{-N (Paso 1)} * F = \text{___ kg/kg}$$

$$NH_4 \text{ disp} = 0,000650 * 1 = 0,000650 \text{ kg N/kg gallinaza}$$

Donde F es la fracción de volatilización del  $NH_4$ -N contenido en el abono y depende de su estado y de la forma de aplicación. Usar F del Cuadro 5, según corresponda su caso.

**Cuadro 5. Fracción de volatilización de  $NH_4$ -N (F).**

| Tipo de abono                                 | F    |
|-----------------------------------------------|------|
| Líquido y aplicado en la superficie del suelo | 0,25 |
| Líquido e incorporado al suelo                | 1    |
| Seco y aplicado de cualquier manera           | 1    |

**Paso 3.** Calcular la cantidad de nitrógeno orgánico disponible (No-disp.) en el abono depende de la tasa de mineralización del material. La tasa de mineralización (T) se toma del Cuadro 6. Esta tasa depende de cómo el abono o estiércol es tratado.

$$\text{No-disp.} = \text{No (paso 1)} * \text{Tasa de mineralización (T)}$$

$$\text{No-disp.} = 0,0292 * 0,35 = 0,01022 \text{ kg N/kg}$$

**Cuadro 6. Valores de tasa de mineralización (T). Entre 0 - 1 año después de aplicarlo.**

| Material         | T    |
|------------------|------|
| Gallinaza fresca | 0,90 |
| Bovino fresco    | 0,75 |
| Gallinaza seca   | 0,35 |
| Bovino seco      | 0,30 |

**Paso 4.** Total de N disponible en el abono (TNdisp.) es determinado por la adición de los resultados totales de los pasos 2 y 3 a la cantidad de  $\text{NO}_3\text{-N}$  del paso 1, asumiendo 100% del  $\text{NO}_3\text{-N}$  es disponible:

$$\text{TNdisp.} = \text{NO}_3 \text{ (paso 1)} + \text{NH}_4\text{-disp. (paso 2)} + \text{No-disp. (paso 3)}$$

$$0,00018+0,000650+0,01022=0,01105 \text{ kg N/kg gallinaza}$$

#### **Paso 5. Créditos de N:**

**5a.** Créditos de N por cultivos previos de leguminosas (Nprevios leg). Si el cultivo del año anterior fue una leguminosa, habrá créditos de N en el suelo. Seleccione este valor basado en el Cuadro 7.

$$\text{Nprevios leg.} = 47 \text{ kg/ha}$$

**5b.** Contenido de  $\text{NO}_3\text{-N}$  existente en el suelo (Nresidual). Este N puede ser cuantificado por análisis de suelo. Para expresar el Nresidual en kg/ha, se debe considerar la profundidad (cm) de la toma de muestra y la densidad aparente del suelo ( $\rho$ ) ( $\text{g/cm}^3$ ).

Para nuestro ejemplo:  $\text{NO}_3$  del suelo = 1550 ppm =  $1,55 \times 10^{-6}$  kg/g,  $\rho=1,4 \text{ g/cm}^3$ , profundidad de muestreo = 10 cm, 1ha = 10.000  $\text{cm}^2$ .

$N_{\text{residual}} = \text{Cantidad de NO}_3 \cdot \rho \cdot \text{profundidad de muestras (kg/ha)}$

$$N_{\text{residual}} = (1,55 \cdot 10^{-6} \text{ kg/g}) \cdot 1,4 \text{ g/cm}^3 \cdot 10 \text{ cm} \cdot 10.000 \text{ cm}^2/\text{ha} = 0,217 \text{ kg/ha}$$

**5c.** Abono previo aplicado. Este va a depender del N orgánico (No) presente en el suelo. Debido a que la mineralización del nitrógeno orgánico ocurre sobre un largo periodo de tiempo, existen unos créditos de nitrógeno para los abonos o estiércoles frescos aplicado al suelo previamente. Este crédito es de 0,5 del total de No aplicado el año anterior y es necesario encontrar dos valores:

1. La cantidad de No disp del año anterior (Anterior No disp.) (kg/kg)
2. Tasa de aplicación de N del año anterior (Anterior tasa aplicación) (kg/ha).

Para nuestro ejemplo: Anterior No disp. = 0,00477 kg/kg. Anterior tasa aplicada = 5235,6 kg/ha

Previo No disp. =  $0,5 \cdot \text{Anterior No disp.} \cdot \text{Anterior tasa aplicación}$  (kg/ha)

$$\text{Previo No}_{\text{disp.}} = 0,5 \cdot 0,00477 \cdot 5235,6 = 12,48 \text{ kg/ha}$$

Total de créditos de N =  $5a + 5b + 5c$  (kg/ha)

$$\text{Total de créditos de N} = 47 + 0,217 + 12,48 = 59,70 \text{ (kg/ha)}$$

**Cuadro 7. Crédito de N por leguminosas en rotación**

| Cultivo de leguminosa                       | Crédito de N (kg/ha) |
|---------------------------------------------|----------------------|
| Caraota (Primer año)                        | 47                   |
| Caraota (segundo año)                       | 15                   |
| Soya                                        | 50                   |
| No hubo cultivo Leguminosas el año anterior | 0                    |

### **Paso 6.** Cantidad de N necesario a aplicar (Nna).

La cantidad de N a aplicar va a depender del tipo de cultivo.

Para nuestro ejemplo es maíz, los requerimientos de N son de 120 kg N/ha

Nna = Requerimiento de N por el cultivo – Total de créditos de N (paso 5)

$$Nna = 120 - 59,70 = 60,30 \text{ kg N/ha}$$

### **Paso 7.** Tasa agronómica de gallinaza a ser aplicada (TAA) basada en los requerimientos de N.

La TAA es calculada por la división del N necesario a aplicar (paso 6) entre el TNdis (paso 4).

$$TAA = \frac{Nna}{TN_{disp}} = \frac{60,30 \text{ Kg N/ha}}{0,01105 \text{ Kg N/Kg gallinaza}} = 5.457,01 \frac{\text{kg gallinaza}}{\text{ha}}$$

### **Paso 8.** Cantidad de P disponible en la gallinaza.

Factor de P disponible (FPdisp.) 50%

Cantidad total de P ( $P_2O_5$ ) en el abono (Paso 1)

= 0,023 kg P / kg gallinaza

Cantidad de P disponible (Pdisp.)

$$Pdisp = \text{Total } P_2O_5 * F \text{ Pdisp}$$

$$Pdisp = 0,023 * 0,5 = 0,0115 \text{ kg P / kg gallinaza}$$

## Paso 9. Total de Pdisp. aplicado

La cantidad de Pdisp aplicado dependerá de la cantidad de la TAA (Paso 7) y el Pdisp. (Paso 8).

$$\text{Pdisp aplicado} = \text{TAA} * \text{Pdisp} .$$

$$\text{Pdisp aplicado} = 5.457,01 * 0,023 = 125,51 \text{ kg P / ha}$$

Comparar la cantidad de Pdisp. aplicado con los requerido por el cultivo

Si Pdisp. aplicado es **menor** a lo requerido por el cultivo, adicionar fertilizante químico en la germinación.

Si Pdisp. aplicado es **mayor** a lo requerido por el cultivo. Este no debería exceder más de 2,5x, si lo excede, realizar otro cálculo de TAA basada en P en lugar de N.

En el caso de nuestro ejemplo el Pdisp. aplicado es mayor, pero no excede 2,5x, por lo tanto, no hay que hacer otro cálculo.



# Bibliografía consultada

- Espinoza, Y; Gil J. L. 2004. Manejo de estiércol animal como fertilizante. *Agroservicios*, 9: 50-53.
- Faust, H.; Sebastianelli, A.; Axmann, H. 1987. Manual de Laboratorio de Métodos para Análisis de  $^{15}\text{N}$ . FAO/OIEA. Viena, Austria. pp. 35-42.
- Golueke, C G. 1977. Biological processing: Composting and hydrolisys. *En*: D.G. Wilson, (Ed). Handbook of Solid Waste Management. New York. pp. 197 – 225.
- Haug, R T 1993. The Practical Handbook of Compost Engineering. Lewis Pubishers. Boca Ratón, EUA. pp. 100 – 102.
- Harada, Y; Inoko, A. 1980. The measurement of the cation-exchange capacity of composts for the estimation of the degree of maturity, *Soil Science and Plant Nutrition*, 26:127-134.
- Peters, J. 2003. Recommended Methods of Manure Analysis. Univ. Wisconsin Extension Service. Madison, EUA. 57p.
- Sadzawka, A.; Carrasco, M. A.; Grez, R.; Mora, M. 2005. Métodos de análisis de compost. Series Actas INIA No. 30. Centro Regional de Investigación La Platina. Santiago de Chile, Chile. pp 7-57.
- Soto, G.; Meléndez, G. 2004. Cómo medir la calidad de los abonos orgánicos. *En*: Manejo Integrado de Plagas y agroecología. Hoja técnica. No. 72. Costa Rica. pp. 91-97.
- Turco, R.F.1994. Coliform Bacteria. *In*: R.W. Weaver, J.S. Angle, and P. S. BottomLey. Methods of Soil Analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties-SSSA Book Series, No 5. pp 145-158.
- Woomer, P L. 1994. Most Probable Number Counts. *In*: R.W. Weaver, J. S. Angle, and P.S. Bottom Ley. Methods of Soil Analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties-SSSA Book Series, No 5. pp. 59-79





Gobierno  
**Bolivariano**  
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular  
para la **Agricultura Productiva y Tierras**

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas



1817 - 2017  
**ZAMORA**  
UNIÓN CÍVICO MILITAR

ISBN: 978-980-318-338-7



9 789803 183387