

Compendio de métodos analíticos para la caracterización de residuos, compost y efluentes de origen agropecuario y agroindustrial

Compiladores

Laura E. Martínez, Pedro F. Rizzo, Patricia A. Bres, Nicolás I. Riera, María E. Beily y Brian J. Young





Compendio de métodos analíticos para la caracterización de residuos, compost y efluentes de origen agropecuario y agroindustrial

Compiladores

*Laura E. Martínez, Pedro F. Rizzo, Patricia A. Bres,
Nicolás I. Riera, María E. Beily y Brian J. Young*



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Argentina

INTA Ediciones

Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola – IMyZA – CICVyA

2021

60:63 C73 Compendio de métodos analíticos para la caracterización de residuos, compost y efluentes de origen agropecuario y agroindustrial / compiladores Laura E. Martínez... [et al.]. – Buenos Aires : Ediciones INTA; Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, 2021. 159 p. : il. (PDF)

Otros compiladores: Pedro F. Rizzo, Patricia A. Bres, Nicolás I. Riera, María E. Beily y Brian J. Young

ISBN 978-987-679-309-4 (digital)

i. Martínez, Laura E. ii. Rizzo, Pedro F. iii. Bres, Patricia A. iv. Riera, Nicolás I. v. Beily, María E. vi. Young, Brian J.

TECNICAS ANALITICAS – RESIDUOS – COMPOST – EFLUENTES – AGRICULTURA – AGROINDUSTRIA

DD-INTA

Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto, queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899.

Ha sido elaborado como un producto del PNNAT 1128042 (Programa Nacional de Recursos Naturales, Gestión Ambiental y Ecorregiones del INTA): proyecto específico "Tecnologías y estrategias de gestión de residuos y efluentes en sistemas agropecuarios y agroindustriales", coordinado por la Ing. Agr. Diana Crespo (2013-2018).

Diseño:

Lorena La Fuente

Foto de tapa:

Matías Ottaviani

*Este libro
cuenta con licencia:*



AUTORES

INTA – Estación Experimental Agropecuario Mendoza
Martínez, Laura E.

INTA – CICVyA – Instituto Microbiología y Zoología Agrícola
Rizzo, Pedro F.
Bres, Patricia A.
Riera, Nicolás I.
Beily, María E.
Della Torre, Virginia
Young, Brian J.

INTA – Estación Experimental Agropecuario Pergamino
Torti, María J.

INTA – Estación Experimental Agropecuario Hilario Ascasubi
Dunel Guerra, Luciana G.
Storniolo, Romina

INTA – Estación Experimental Agropecuario Marcos Juárez
Pegoraro, Vanesa R.

INTA – Agencia de Extensión Rural Aimogasta
Juárez, Julio A.

**Universidad Nacional del Comahue – Centro Regional Universitario
Bariloche**
Crego, María P.

REVISORES

Universidad Nacional de Buenos Aires – Facultad de Agronomía

Ratto, Silvia E.
Marbán, Liliana G.

INTA – CIRN – Instituto de Suelos

Ostinelli, Miriam M.

Universidad Nacional del Comahue – Centro Regional Universitario

Bariloche
Satti, Patricia S.

LABORATORIOS PARTICIPANTES EN LOS INTERLABORATORIOS (2014 - 2017)

INTA

- *CICVyA – Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA): Pedro F. Rizzo, Patricia A. Bres, Nicolás I. Riera, María E. Beily, Virginia Della Torre, Brian J. Young y Mauro Viton.*
- *CIRN – Instituto de Suelos (IS): Miriam M. Ostinelli, Daniel A. Carreira, Ailén M. F. Soto, Nicolás Maciel y Lucas Torres.*
- *EEA Mendoza: Laura E. Martínez, Mariana Pino, Walter E. Haist y Oscar R. Guarise.*
- *EEA San Juan: Sergio A. Mundaca.*
- *EEA Hilario Ascasubi: Luciana G. Dunel Guerra y Romina Storniolo.*
- *EEA Rafaela: Mónica del C. Gaggiotti y Karina E. García.*
- *AER Aimogasta: Julio A. Juárez.*
- *EEA Pergamino: Juliana Torti y Virginia Fain Binda.*
- *EEA Concepción Uruguay: Corina I. Bernigaud.*
- *EEA Marcos Juárez: Cristian Cazorla y Vanesa R. Pegoraro.*

INTI Rafaela: *Diego Cazzaniga.*

SENASA: *Elcira Borja y Marisa L. Bumaguin.*

Universidad Nacional del Comahue – CRUB: *María P. Crego y Patricia S. Satti.*

Universidad Tecnológica Nacional Rafaela: *María C. Panigatti.*

Universidad Nacional de Santiago del Estero: *María I. Sánchez de Pinto, Ana C. Palavecino, Carolina Herrera y Raúl Saavedra.*

Universidad Nacional de Cuyo: *María F. Filippini y Antonella Porta.*

Universidad Nacional del Noroeste - Chaco: *María C. Leconte.*

Universidad Nacional de San Martín: *Pamela Tripodi.*

Universidad Nacional de Chilecito: *Dina R. Ormeño y Soraya Zanotto.*

Universidad Nacional de Rosario: *Elena Gómez.*

TECNOAGRO: *Brenda Luders.*

ÍNDICE

| | |
|---|------------|
| PRÓLOGO | 3 |
| RESIDUOS ORGÁNICOS SÓLIDOS Y COMPOST | 4 |
| S-1 ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO | 5 |
| S-2 MOLIENDA | 9 |
| S-3 DENSIDAD APARENTE | 11 |
| S-4 HUMEDAD Y MATERIA SECA..... | 14 |
| S-5 MATERIA ORGÁNICA Y CENIZAS | 17 |
| S-6 pH EN SUSPENSIÓN 1:5 | 21 |
| S-7 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA EN SUSPENSIÓN 1:5 | 25 |
| S-8 NITRÓGENO TOTAL..... | 28 |
| S-9 NITRÓGENO KJELDAHL | 33 |
| S-10 NITRÓGENO DE AMONIO Y NITRATO | 38 |
| S-11 FÓSFORO TOTAL..... | 44 |
| S-12 CATIONES MAYORITARIOS Y ELEMENTOS TRAZAS TOTALES..... | 55 |
| S-13 BIOENSAYO DE FITOTOXICIDAD | 58 |
| RESIDUOS LÍQUIDOS Y EFLUENTES | 71 |
| E-1 ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO | 72 |
| E-2 SÓLIDOS TOTALES..... | 76 |
| E-3 SÓLIDOS VOLÁTILES..... | 79 |
| E-4 pH..... | 82 |
| E-5 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA | 84 |
| E-6 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO | 86 |
| E-7 NITRÓGENO KJELDAHL | 90 |
| E-8 NITRÓGENO AMONICAL | 95 |
| E-9 FÓSFORO TOTAL..... | 99 |
| E-10 FÓSFORO SOLUBLE..... | 110 |
| E-11 BIOENSAYO DE FITOTOXICIDAD | 113 |
| INTERLABORATORIO: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS | 123 |

| | |
|--|-----|
| ANEXOS | 132 |
| ANEXO I: HIGIENE Y SEGURIDAD DEL PERSONAL Y LIMPIEZA DEL MATERIAL . | 133 |
| ANEXO II: CALIBRACIÓN del pH-METRO | 136 |
| ANEXO III: CALIBRACIÓN DE CONDUCTIMETRO..... | 137 |
| ANEXO IV: VALORACIÓN DE SOLUCIONES ÁCIDO Y BASE | 140 |
| ANEXO V: PLANILLA DE INGRESO Y REGISTRO DE DATOS ANALITICOS DE UNA Y VARIAS MUESTRAS..... | 144 |
| ANEXO VI: DETALLE DE LOS FACTORES DE CORRECCIÓN | 146 |
| ANEXO VII: INDICADORES DEL PROCESO DE COMPOSTAJE..... | 147 |

PRÓLOGO

El presente compendio de métodos analíticos ha sido elaborado por una comisión de profesionales *ad hoc*, del sector público y privado, bajo la coordinación y financiamiento del Proyecto Específico INTA PNNAT 1128042 “Tecnologías y Estrategias de Gestión de Residuos y Efluentes Agropecuarios y Agroindustriales” y el Convenio de Asistencia Técnica INTA-Fundación ArgenINTA (fondos provenientes del Proyecto H2020-FERTIMANURE).

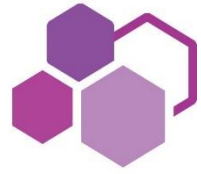
El Laboratorio de Transformación de los Residuos del Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola del Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (LTR-IMyZA, CICVyA, INTA) tuvo a su cargo la organización, planificación, selección de los laboratorios competentes, coordinación de los ensayos de interlaboratorios (INTERLAB RyE), procesamiento de los materiales de ensayo y costeo de los envíos.

Los trabajos para organizar los INTERLAB RyE se iniciaron en el 2013 y se contó, desde el inicio, con el apoyo y el compromiso necesarios de los laboratorios seleccionados que permitieron volcar en este manual, de manera consensuada, las experiencias de trabajo ininterrumpidos para la caracterización de residuos sólidos y efluentes y sus productos valorizados mediante distintas tecnologías.

Este manual constituye un punto de referencia inicial que busca contribuir a la estandarización de métodos de análisis de muestras de compost, residuos orgánicos y efluentes, diferenciándolos de aquellos que se aplican a las matrices suelo y agua. Es necesario continuar con programas de participación de los distintos laboratorios que permitan comparar resultados y monitorear el desempeño de cada uno en la búsqueda de la reproducibilidad y repetitividad de las distintas mediciones.

Participó activamente en el desarrollo de los interlaboratorios y confección del manual, personal de 8 Estaciones Experimentales Agropecuarias y 2 Institutos de Investigación del INTA, 1 laboratorio privado, 8 Universidades, 2 Institutos del CONICET, INTI y SENASA. A todos los colegas, un agradecimiento por el esfuerzo en hacer posible este trabajo y por volcar con generosidad sus experiencias, valoraciones y sugerencias para asegurar la mejora continua en los procesos nacionales de evaluación.

Ing. Agr. Diana C. Crespo
Jefe de Grupo del LTR
Coordinador PNNAT 1128042
CA INTA-Fundación H2020
IMyZA – CICVyA – CNIA
INTA Castelar. Buenos Aires



RESIDUOS ORGÁNICOS SÓLIDOS Y COMPOST



S-1 ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

1. INTRODUCCIÓN

Los residuos orgánicos provenientes de producciones agropecuarias y agroindustriales son materiales de origen animal o vegetal, cuya composición es muy heterogénea, tanto en tamaño como en calidad nutritiva. Los residuos derivados de la producción animal (aves, porcinos, bovinos) son las principales fuentes de estos materiales, sumados, en algunos casos, a restos de actividades agrícolas y/o forestales. Los materiales compostados también requieren un tratamiento previo antes de ser analizados.

El objetivo del acondicionamiento de una muestra sólida es obtener una muestra representativa que mantenga su estado físico, químico y microbiológico por un período suficiente para garantizar la obtención de resultados comparables. El grado de fiabilidad de los resultados obtenidos estará estrechamente relacionado con el correcto acondicionamiento de la muestra desde su extracción hasta su análisis definitivo.

La heterogeneidad del material y la cantidad de métodos comprendidos en este compendio requiere un volumen de, al menos, 10 L de muestra. En el caso de prescindir de la determinación de Densidad Aparente se requerirá al menos 7 L.

2. INSTRUMENTAL

- 2.1. **Pala pequeña.**
- 2.2. **Anteojos de seguridad.**
- 2.3. **Pinzas.**
- 2.4. **Guantes descartables.**
- 2.5. **Barbijo o máscara de protección respiratoria para gases.**
- 2.6. **Tijera.**
- 2.7. **Lámina de plástico o bandeja grande para cuarteo de 45 x 30 cm.**
- 2.8. **Bolsa de *nylon*.**
- 2.9. **Heladera.**

3. REACTIVOS

No se requieren reactivos en este método.

4. PROCEDIMIENTO

- 4.1. Tomar una porción con una pala pequeña de la muestra compuesta por varias submuestras de manera de obtener material representativo. Extender sobre la lámina o bandeja, alcanzando una altura aproximada de 5 cm, con un volumen de alrededor de 7 L. Es necesario el uso de los elementos de seguridad.
- 4.2. Identificar materiales cortantes o punzantes (por ejemplo, agujas de origen veterinario) y extraerlos con pinza. Separar los materiales inertes o extraños que pudiera contener la muestra (por ejemplo, plástico, vidrio).
- 4.3. Homogeneizar la muestra.
- 4.4. Reducir el tamaño de los fragmentos, hasta transformarlos en pequeños fragmentos (menores a 2 cm), con una tijera o desmenuzar con la mano en el caso que la muestra presente trozos grandes (por ejemplo, hojas de árboles o estiércol de vaca).
- 4.5. Homogeneizar la muestra nuevamente.
- 4.6. Realizar un cuarteo sobre la muestra homogeneizada (Figura 1).
- 4.7. Tomar, al menos, cuatro alícuotas del cuarteo y formar una muestra compuesta de 2 L, como mínimo. Colocar en una bolsa de *nylon* y etiquetar. Esta muestra será considerada muestra húmeda en cada método.
- 4.8. Obtener tres réplicas de la muestra repitiendo desde el punto 4.4.
- 4.9. Llevar las bolsas inmediatamente a una heladera a 4 °C si no se realizan los análisis inmediatamente.
- 4.10. Poner a secar a 70 °C una porción de la muestra y continuar con el método S-2.
- 4.11. Si se desea determinar Densidad Aparente (Método S-3) se deberá utilizar la muestra remanente sin disturbar.



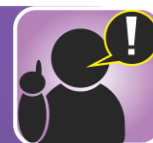
Figura 1. Cuarteo de la muestra.

5. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* El acondicionamiento de la muestra tiene que realizarse lo más pronto posible después del muestreo y, en el caso que no sea posible, conservar la muestra en la heladera, por no más de 48 horas.

* La excesiva manipulación de la muestra puede aumentar las pérdidas por evaporación o volatilización de algunos compuestos de interés como el amonio y la humedad, por lo que el fraccionamiento de las réplicas debe hacerse en ambiente fresco y de manera rápida.

* Se debe dejar constancia de la información de las muestras y registro de los datos analíticos de cada método (Anexo V).



6. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA Nº 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

7. DIAGRAMA DEL PASO A PASO

En la Figura 2, se muestra el diagrama de los pasos a seguir para realizar los métodos analíticos incluidos en este compendio.

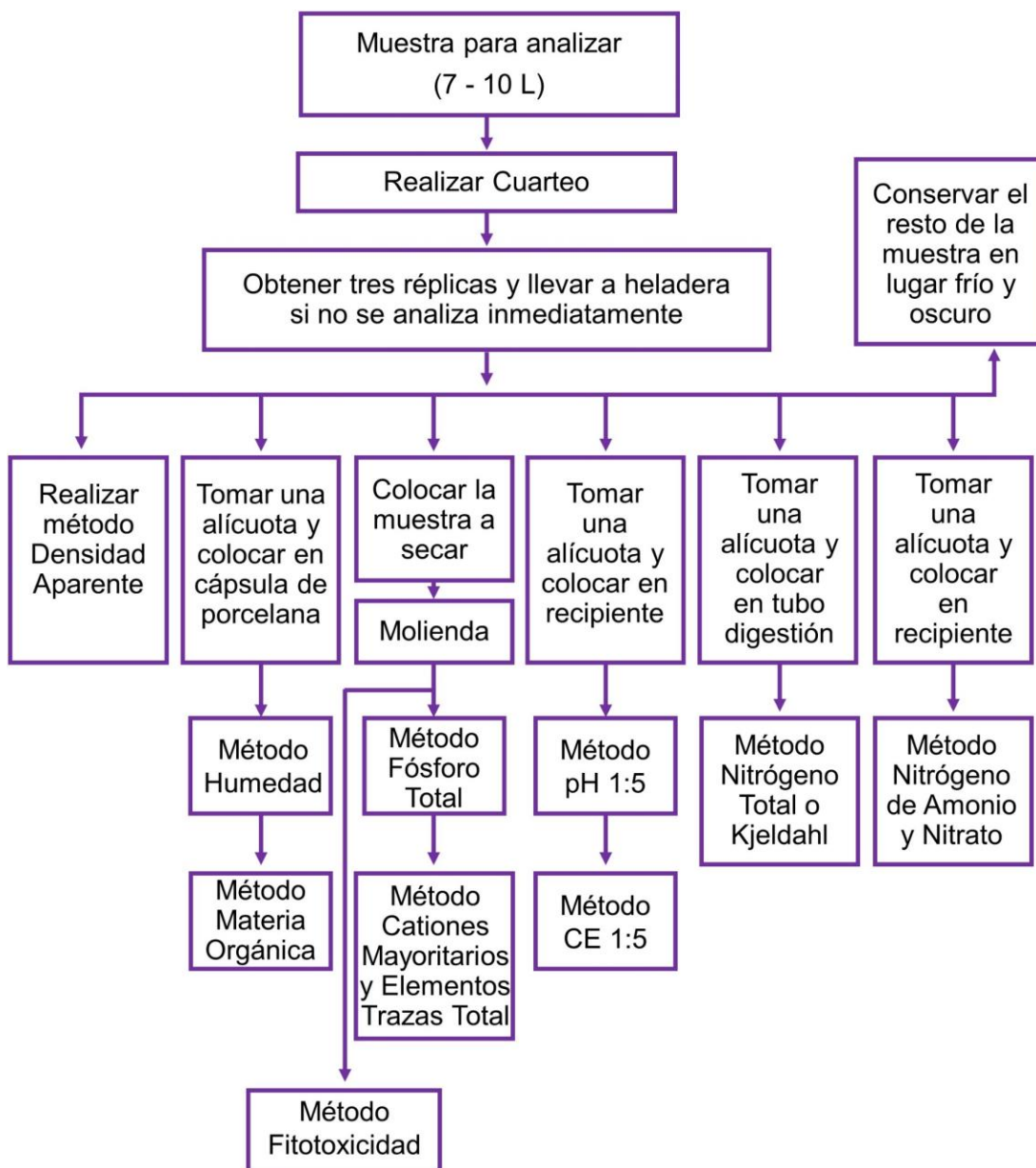


Figura 2. Diagrama del paso a paso para llevar a cabo los métodos analíticos de las muestras sólidas.

S-2 MOLIENDA

1. INTRODUCCIÓN

La molienda es un proceso de desintegración mecánica de la muestra que permite el incremento de la superficie de contacto y, consecuentemente, la mejora en la eficiencia de las etapas sucesivas del análisis, además de la uniformidad en el tamaño de las partículas ayudando en una mejor homogeneización de la muestra.

2. PRINCIPIO

Una porción de la muestra seca a 70 °C y libre de materiales inertes se muele en un molinillo de laboratorio.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos de laboratorio como:

- 3.1. **Molinillo de impacto de rotor y palas para molienda de muestras vegetales con criba de 2 mm.**
- 3.2. **Recipientes con tapas limpios de 100 mL.**

4. REACTIVOS

No se requieren reactivos en este método.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Moler la muestra seca a 70 °C en el molinillo utilizando una criba 2 mm (Figura 3). Esta muestra será considerada muestra seca y molida.**
- 5.2. **Guardar en el recipiente y conservar en la heladera a 4 °C.**



Figura 3. Molienda y tamizado de la muestra, a) tamiz de 2 mm; b) envasado de la muestra tamizada.

6. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* En el caso que la muestra sea homogénea o no se cuente con molinillo, se puede trabajar con la muestra sin moler, considerando las correcciones de humedad de la muestra en los cálculos si fuera necesario.



7. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA N° 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

S-3 DENSIDAD APARENTE

1. INTRODUCCIÓN

La densidad aparente de una muestra sólida es la relación entre la masa y el volumen que ocupa. En el caso de compost o residuos, es importante este valor para transformar los resultados analíticos obtenidos en unidades gravimétricas a unidades volumétricas. En este caso, se utiliza el valor de masa en base seca, mientras que para el manipuleo en campo se utiliza el valor de masa expresado en base húmeda.

2. PRINCIPIO

Se mide la masa de una alícuota de la muestra húmeda que ocupa un volumen determinado.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y, en particular:

- 3.1. **Vaso de precipitado de plástico graduado de 2000 mL (18 cm de alto y 15 cm de diámetro).**
- 3.2. **Balanza granataria con exactitud 0,1 g.**
- 3.3. **Plancha de goma de 3 mm (aproximadamente) de espesor.**

4. REACTIVOS

No se requieren reactivos en este método.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Pesar y registrar la masa del vaso de precipitado vacío y seco.**
- 5.2. **Colocar una alícuota de 600 cm³ de muestra húmeda en el vaso de precipitado.**
- 5.3. **Dejar caer libremente el vaso sobre una plancha de goma, tres veces, desde una altura de 15 cm, manteniendo el vaso en posición vertical.**
- 5.4. **Completar con la muestra hasta volumen de 1200 mL en el vaso de precipitado.**
- 5.5. **Dejar caer libremente el vaso nuevamente sobre una plancha de goma, tres veces, desde una altura de 15 cm, manteniendo el vaso en posición vertical.**
- 5.6. **Completar con la muestra hasta volumen de 1800 mL sin repetir la caída libre.**
- 5.7. **Pesar el vaso de precipitado con la muestra.**

6. CÁLCULO

La densidad aparente (DA) se puede expresar en kg/m³ en base húmeda (bh) y se calcula según:

$$DA_{bh} \left(\frac{kg}{m^3} \right) = \frac{A - B}{1,8}$$

Donde:

A= masa del vaso de precipitado + muestra húmeda (g).

B= masa del vaso de precipitado (g).

1,8= factor de corrección para expresar en kg/m³ (ver detalle en Anexo VI).

También se puede expresar en kg/m^3 en base seca (bs) a 70°C y se calcula según:

$$DA_{bs} \left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right) = \frac{(A - B) \times MS}{180}$$

Donde:

A= masa del vaso de precipitado + muestra (g).

B= masa del vaso de precipitado (g).

MS= materia seca (%).

180= factor de corrección para expresar en kg/m^3 (ver detalle en Anexo VI).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Calibrar el vaso de precipitado pesando 1800 g de agua destilada a 25°C aproximadamente y verificar su volumen o marcar el menisco según el volumen.

* En el caso de disponer de poca cantidad de muestra o no disponer de los materiales requeridos se puede realizar el procedimiento en un vaso de precipitado plástico de 500 mL adecuando la metodología a ese volumen.



8. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA N° 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-4 HUMEDAD Y MATERIA SECA

1. INTRODUCCIÓN

La humedad es el contenido de agua en la muestra húmeda y la materia seca es el material remanente luego de un período de secado. Estas variables se utilizan para monitorear el proceso de compostaje, para referenciar otras variables (nutrientes, metales) en base seca y para calcular dosis de aplicación.

2. PRINCIPIO

Una alícuota de la muestra húmeda se seca a 70 ± 5 °C hasta masa constante. La diferencia de masas corresponde al contenido de agua de la muestra.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Cápsulas de porcelana de 30 - 100 mL.**
- 3.2. **Estufa de secado con circulación de aire a 70 ± 5 °C.**
- 3.3. **Desecador con agente secante activo.**
- 3.4. **Balanza analítica con capacidad de 100 - 200 g y exactitud de 0,01 g.**

4. REACTIVOS

No se requieren reactivos para este método.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pesar la cápsula y registrar su masa.
- 5.2. Pesar una porción de muestra comprendida entre 10 y 20 g de la muestra húmeda y colocar en la cápsula. Registrar la masa.
- 5.3. Colocar en estufa a 70 ± 5 °C hasta masa constante. Se sugiere un período de secado de 18 a 48 horas, dependiendo del contenido de humedad y tipo de muestra para lograr masa constante.
- 5.4. Colocar en desecador y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- 5.5. Pesar y registrar la masa.

6. CÁLCULO

Calcular el contenido de humedad (H) y la materia seca (MS) en % en base húmeda:

$$H (\%_{bh}) = \frac{(A - B) \times 100}{(A - C)}$$

Donde:

A= masa de la cápsula + la muestra húmeda (g).

B= masa de la cápsula + la muestra seca a 70 ± 5 °C (g).

C= masa de la cápsula (g).

$$MS (\%_{bh}) = 100 - H$$

Donde:

H= humedad ($\%_{bh}$).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Las cápsulas de porcelana pueden ser reemplazadas por crisoles o vaso precipitado de vidrio en el caso de no continuar con la determinación de materia orgánica.

* Conservar las cápsulas en desecador si se desea determinar materia orgánica a partir de este método.



Continúa en la página siguiente

* Se puede secar una porción grande de muestra en un recipiente metálico, y luego de determinar humedad continuar con el método de materia orgánica y molienda para fósforo total y cationes mayoritarios.

* En el caso que las muestras presenten granulometría diversa o heterogeneidad alta, la masa y el recipiente a utilizar deberán ser mayores para asegurar la representatividad de la muestra. Si es necesario, se sugiere fragmentar las partículas grandes (residuos vegetales).

* Previo al análisis, se recomienda secar los recipientes en estufa a 70 ± 5 °C por 2 horas y colocar en desecador hasta que llegue a temperatura ambiente.

8. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA N° 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-5 MATERIA ORGÁNICA Y CENIZAS

1. INTRODUCCIÓN

La materia orgánica es el componente predominante del compost y los residuos agropecuarios y agroindustriales. A partir de este valor se puede estimar el contenido del carbono orgánico. Durante el compostaje este contenido disminuye y su determinación contribuye al monitoreo del proceso.

2. PRINCIPIO

Una alícuota de la muestra seca a 70 ± 5 °C se calcina a 550 ± 50 °C. La ceniza que se obtiene es la porción mineral de la muestra y la pérdida de masa corresponde al contenido de materia orgánica.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio y en particular:

- 3.1. **Cápsulas de porcelana de 30 – 100 mL.**
- 3.2. **Mufla.**
- 3.3. **Desecador con agente secante activo.**
- 3.4. **Balanza analítica con exactitud 0,01 g.**

4. REACTIVOS

No se requieren reactivos para este método.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Colocar en una mufla la cápsula que contiene la muestra seca a 70 °C proveniente del método S-4 (Figura 4).
- 5.2. Calcinar la muestra a 550 ± 50 °C hasta masa constante. Se sugiere un período de calcinación mínimo de 4 horas para lograr una mineralización completa.
- 5.3. Apagar la mufla y dejar enfriar hasta que la temperatura permita transferir la cápsula a un desecador. Mantener la muestra en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
- 5.4. Pesar y registrar la masa de la cápsula + muestra calcinada (Figura 4).



Figura 4. Calcinación de las muestras, a) muestra seca antes de la calcinación; b) muestra después de la calcinación a 550 °C.

6. CÁLCULO

Calcular el contenido de materia orgánica (MO) y cenizas (Cen) en % en base seca:

$$MO(\%_{bs}) = \frac{(A - B) \times 100}{A - C}$$

Donde:

A= masa de la cápsula + muestra seca (g) obtenida en el método S-4.

B= masa de la cápsula + muestra calcinada (g).

C= masa de la cápsula (g) obtenida en el método S-4.

$$Cen (\%_{bs}) = 100 - MO (\%_{bs})$$

Otras formas de expresión:

- a) Una de las formas de expresión es mediante el contenido de carbono orgánico total (COT) a partir de la materia orgánica:

$$COT(\%_{bs}) = \frac{MO (\%_{bs})}{1,8}$$

Donde:

MO_{bs}= materia orgánica en base seca (%).

1,8 es el factor de conversión que asume que el 56 % de la materia orgánica en un compost está compuesta por Carbono.

- b) Otra forma de expresión es mediante el contenido de materia orgánica y ceniza, en base húmeda (bh), cuyos valores permiten diferenciar los tres componentes principales del material, agua (H), materia orgánica (MO_{bh}) y cenizas (Cen_{bh}):

$$MO(\%_{bh}) = \frac{MO_{bs} \times MS}{100}$$

Donde:

MO_{bs}= materia orgánica en base seca (%).

MS= materia seca (%).

$$Cen (\%_{bh}) = 100 - MO_{bh} - H$$

Donde:

MO_{bh}= materia orgánica en base húmeda (%).

H= humedad (%).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Las cápsulas de porcelana pueden ser reemplazadas por crisoles con tapa para evitar proyecciones.



* Algunas muestras pueden presentar un alto contenido de carbonatos que sobreestimen el valor de materia orgánica. En este caso, es recomendable eliminar el contenido de carbonatos con solución de HCl 0,05 N hasta cese de burbujeo.

* Algunos laboratorios sugieren incinerar la muestra a fuego directo antes de calinar para evitar la generación de humo excesivo que podría ocasionar daño en el equipo.

8. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA Nº 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-6 pH EN SUSPENSIÓN 1:5

1. INTRODUCCIÓN

El pH en una suspensión acuosa indica la actividad del ion hidrógeno e influye sobre la disponibilidad de nutrientes, metales pesados, abundancia y actividad microbiológica del material. El pH es un indicador de calidad del compost, resultando una herramienta útil para determinar su uso agronómico.

2. PRINCIPIO

La intensidad del carácter ácido o básico de una suspensión acuosa puede medirse por la actividad del ión hidrógeno (H^+), la cual en suspensiones diluidas puede presumirse equivalente a la concentración molar. La actividad del H^+ puede expresarse bajo la forma $pH = -\log [H^+]$.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**
- 3.2. **Probeta de 250 mL.**
- 3.3. **Recipiente con tapa de 350 mL.**
- 3.4. **Agitador recíproco.**
- 3.5. **pH-metro con electrodo de pH.**

4. REACTIVOS

Los reactivos necesarios son mencionados en el Anexo III, calibración del pH-metro.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Calcular la masa de muestra húmeda equivalente a 40 g de muestra seca (A), según:**

$$A (g) = \frac{40 \times 100}{MS}$$

Donde:

MS= materia seca (%).

- 5.2. **Colocar la masa calculada en el recipiente.**
- 5.3. **Calcular el volumen de agua destilada (B) necesaria para generar una relación muestra: solución de 1:5, según:**

$$B (mL) = 200 - (A - 40)$$

- 5.4. **Agregar el volumen B de agua calculada en punto 5.3 dentro del recipiente con la muestra húmeda y tapar.**
- 5.5. **Colocar en agitador por 20 minutos a 180 golpes por minuto (Figura 5).**
- 5.6. **Calibrar el pH-metro, siguiendo el protocolo descrito en la sección Calibración de Equipos (Anexo III).**
- 5.7. **Agitar y colocar inmediatamente el electrodo de pH en la suspensión de la muestra.**
- 5.8. **Leer una vez que se estabilice la lectura.**
- 5.9. **Una vez finalizada la medición, enjuagar el electrodo con abundante agua destilada.**



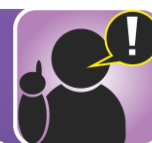
Figura 5. Preparación de la suspensión de la muestra en agua, a) Masa de la muestra y volumen del agua en una relación 1:5; b) Agitación de la suspensión.

6. EXPRESIÓN DE RESULTADO

Los resultados son adimensionales y se expresan como unidades de pH en relación 1:5 (p:v) con un solo decimal.

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

- * Conservar la suspensión para determinar conductividad eléctrica siempre que la determinación se realice inmediatamente después de ésta.
- * Al introducir el electrodo en la muestra, asegurarse que el puente salino quede sumergido en la misma y que el bulbo no toque el fondo del recipiente.
- * En el caso de que la muestra sea homogénea, y con el fin de utilizar menor cantidad de muestra y generar menos residuos, se puede utilizar el equivalente de 20 g de muestra seca en 100 mL de agua, manteniendo la relación compost : agua de 1:5.



Continúa en la página siguiente

* En el caso de residuos que presenten baja densidad aparente y ocupen gran volumen (por ejemplo, hojas, aserrín, cama de caballo, cama de pollo) o con elevado contenido de agua (por ejemplo, guano o lodos agroindustriales) se puede preparar una suspensión 1:10, ya que el material debe encontrarse totalmente sumergido al momento de la agitación. Para lograr una dilución 1:10 hay que colocar 400 mL de agua en vez de 200 mL.

$$B \text{ (mL)} = 400 - (A - 40)$$

Donde:

B= volumen de agua (mL).

A= masa de muestra húmeda equivalente a 40 g de materia seca (g).

En caso que la relación que se utilice sea 1:10, la misma se debe informar claramente, ya que los resultados pueden variar según la relación utilizada.

8. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA N° 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-7 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA EN SUSPENSIÓN 1:5

1. INTRODUCCIÓN

La conductividad eléctrica es una medida del contenido de sales en solución. Valores altos de conductividad eléctrica en los residuos orgánicos y compost limitan su uso en suelos porque podría incrementar el riesgo salino. Este valor también debería considerarse para definir la proporción en la composición de sustratos para el cultivo de plantas.

2. PRINCIPIO

La conductividad eléctrica es una expresión numérica de la capacidad de una solución para transportar una corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la cantidad y calidad de iones, así como de la temperatura de la medición.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**
- 3.2. **Probeta de 250 mL.**
- 3.3. **Recipiente con tapa de 350 mL.**
- 3.4. **Agitador recíproco.**
- 3.5. **Papel de filtro Whatman N.º 42 o equivalente.**
- 3.6. **Embudo de plástico o vidrio.**
- 3.7. **Conductímetro.**

4. REACTIVOS

Los reactivos necesarios son mencionados en el Anexo II, calibración del conductímetro.

5. PROCEDIMIENTO

Si ha preparado la suspensión de 1:5 para determinar pH puede utilizar la misma y evitar repetir los pasos desde 5.1. a 5.4.

- 5.1. **Calcular la masa de muestra húmeda equivalente a 40 g de muestra seca según:**

$$A (g) = \frac{40 \times 100}{MS}$$

Donde:

A= masa de muestra húmeda (g).

MS= materia seca (%).

- 5.2. **Colocar la masa calculada en el recipiente.**
- 5.3. **Calcular el volumen de agua (B) necesario para generar una relación muestra : solución 1:5, según:**

$$B (mL) = 200 - (A - 40)$$

Donde:

A= masa de muestra húmeda calculada (g).

- 5.4. **Agregar el agua al recipiente y tapar.**
- 5.5. **Colocar en agitador por 20 minutos a 180 golpes por minuto.**
- 5.6. **Filtrar la suspensión.**
- 5.7. **Calibrar el conductímetro, siguiendo el protocolo descrito en el anexo de Calibración del conductímetro (Anexo II).**
- 5.8. **Colocar la celda de conductividad en el extracto de la muestra y leer una vez que se estabilice la lectura. Corroborar que la celda quede completamente sumergida en la suspensión.**
- 5.9. **Una vez finalizada la medición, enjuagar el electrodo con abundante agua destilada.**

6. EXPRESIÓN DE RESULTADO

Los resultados se expresan en $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ en relación 1:5 (p:v).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* El proceso de filtrado puede reemplazarse por centrifugación, con 4000 rpm durante 15 minutos, principalmente en los residuos con elevado contenido de agua (por ejemplo, guano o lodos agroindustriales).



* En el caso de residuos que presenten baja densidad aparente y ocupen gran volumen (por ejemplo, hojas, aserrín, cama de caballo, cama de pollo) o con elevado contenido de agua (por ejemplo, guano o lodos agroindustriales) se puede preparar una suspensión 1:10, ya que el material debe encontrarse totalmente sumergido al momento de la agitación. Para lograr una dilución 1:10 hay que colocar 400 mL de agua en vez de 200 mL.

$$B \text{ (mL)} = 400 - (A - 40)$$

Donde:

B= volumen de agua (mL).

A= masa de muestra húmeda equivalente a 40 g de materia seca (g).

En caso que la relación que se utilice sea 1:10, la misma se debe informar claramente, ya que los resultados pueden variar según la relación utilizada.

8. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA Nº 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-8 NITRÓGENO TOTAL

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es el nutriente principal en el análisis de compost, residuos agropecuarios y agroindustriales, debido a que es el más requerido para el crecimiento vegetal. El nitrógeno total (N total) se considera como la suma del nitrógeno orgánico más el nitrógeno del amonio (N-NH_4^+) y del nitrato (N-NO_3^-). El contenido de nitrato (N-NO_3^-) es el resultado de una nitrificación eficiente durante el compostaje. La nitrificación se refiere a la oxidación bioquímica del amonio a nitrato; y para que este proceso se lleve a cabo, es necesaria una buena aireación, ya que están involucrados organismos aeróbicos estrictos. El contenido de nitrógeno total es utilizado para calcular la relación entre el carbono y el nitrógeno (C:N).

2. PRINCIPIO

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado y ácido salicílico en presencia de catalizadores, formándose sulfato de amonio. El producto de esta digestión se destila en exceso de hidróxido de sodio lo que desprende amoníaco. El amoníaco se destila por arrastre de vapor y se recoge en una solución de ácido bórico que posteriormente se titula con una solución de ácido sulfúrico valorada.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**
- 3.2. **Bloque metálico para digestión de tubos de 42 mm de diámetro.**
- 3.3. **Destilador por arrastre de vapor.**
- 3.4. **Tubos de digestión y destilación de 250 mL y 42 mm de diámetro.**
- 3.5. **Erlemeyer de 100 mL.**
- 3.6. **Microbureta de 10 mL con graduaciones a intervalos de 0,01 mL o titulador automático.**

4. REACTIVOS

- 4.1. Acetanilida p.a. 99,9 % m/m
- 4.2. Ácido salicílico p.a. ($C_7H_6O_3$)
- 4.3. Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4)
- 4.4. Sulfato de potasio p.a. ($K_2SO_4 \cdot 5H_2O$)
- 4.5. Sulfato de cobre p.a. ($CuSO_4$)
- 4.6. Hidróxido de sodio p.a. (NaOH)
- 4.7. Verde de bromocresol p.a.
- 4.8. Rojo de metilo p.a.
- 4.9. Ácido bórico p.a. (H_3BO_3)
- 4.10. Etanol cc. (96 %)
- 4.11. Tiosulfato de sodio pentahidratado ($Na_2O_3S_2 \cdot 5H_2O$). Moler los cristales hasta que pasen a través de un tamiz de 0,25 mm de apertura.
- 4.12. Solución de ácido salicílico. Disolver 25 g de ácido salicílico en 1000 mL de ácido sulfúrico.
- 4.13. Mezcla catalítica. Mezclar 94 g de sulfato de potasio, y 6 g de Sulfato de cobre. Porfirizar y homogeneizar.
- 4.14. Solución de hidróxido de sodio 40 %. Disolver 400 g de NaOH en un vaso de precipitado de 1000 mL que contenga 600 mL de agua destilada. Dejar enfriar y completar el volumen a 1000 mL.
- 4.15. Solución indicadora. Disolver 0,1 g de verde de bromocresol y 0,07 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol 96 %. El punto final de la reacción es del color verde al gris neutro.
- 4.16. Solución de ácido bórico con indicador. Disolver 20 g de ácido bórico en 800 mL de agua destilada precalentada a 60°C. Dejar enfriar, trasvasar y aforar a un matraz de 1000 mL que contiene 20 mL de solución indicadora. La solución debe presentar una coloración púrpura rojiza y se ajusta el pH de la solución a 4,5 a 5,0 con una solución de NaOH. Mezclar hasta lograr disolución total. Esta solución es estable por 30 días.
- 4.17. Solución de ácido sulfúrico 1 mol/L. Diluir 28 mL de ácido sulfúrico cc. en 500 mL de agua destilada.
- 4.18. Solución de ácido sulfúrico 0,1 mol/L. Diluir 100 mL de solución de ácido sulfúrico 1 mol/L en 1000 mL de agua destilada. Valorar mediante procedimiento de valoración de soluciones ácido y base (Anexo V).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pesar 0,5 a 1 g de muestra húmeda y colocar en un tubo de digestión. Si la muestra es heterogénea vea sugerencias y experiencias.
- 5.2. Colocar 0,02 g de acetanilida en otro tubo para el patrón.
- 5.3. Disponer otro tubo vacío para el blanco.
- 5.4. Agregar 4 mL de solución de ácido salicílico en ácido sulfúrico en cada tubo y mezclar. En el caso en que el volumen de ácido no esté en contacto con la totalidad de la muestra, se sugiere agregar 4 mL más. Dejar toda la noche en reposo.
- 5.5. Agregar 0,5 g de tiosulfato de sodio molido a través de un embudo de vástago largo en cada tubo.
- 5.6. Calentar a 240 °C hasta que disminuya la espuma. Este proceso puede tardar 45 minutos.
- 5.7. Agregar 1,5 g aproximadamente de mezcla catalítica en cada tubo.
- 5.8. Digerir a 400 °C hasta observar que la muestra digerida esté de color verde claro. La digestión puede tardar entre 2 a 5 horas. Dejar enfriar.
- 5.9. Agregar lentamente 20 mL de agua destilada en cada tubo.
- 5.10. Por cada tubo, agregar 20 mL de solución de ácido bórico con indicador en un erlenmeyer y colocarlo bajo el destilador, de manera que el extremo del condensador quede sumergido en esta solución.
- 5.11. Conectar el tubo de digestión en el destilador.
- 5.12. Agregar 20 mL de solución de hidróxido de sodio 40 % al tubo de digestión y destilar. Verificar que el destilado salga a temperatura ambiente.
- 5.13. Destilar hasta un volumen de 100 mL (Figura 6).
- 5.14. Titular el destilado con una solución de ácido sulfúrico 0,1 mol/L hasta el viraje de color verde a rosa - gris neutro. Alternativamente puede usarse un titulador automático fijando el punto final a pH 4,60.

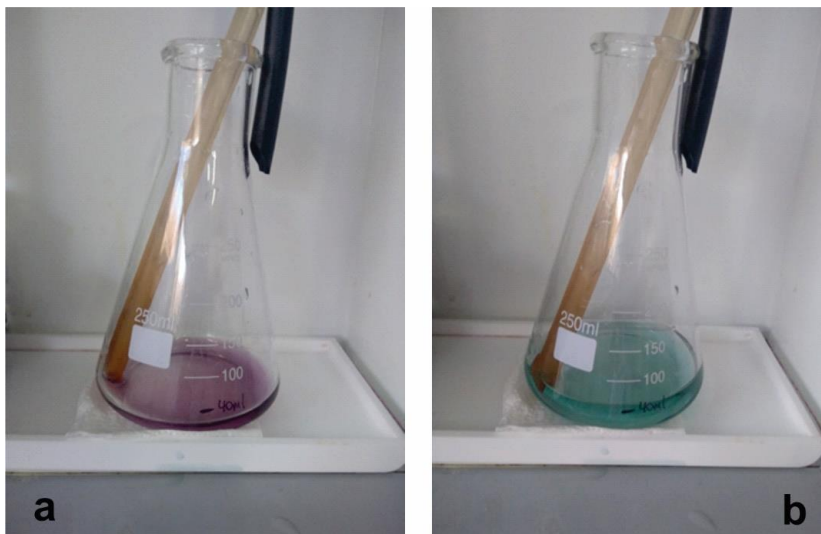


Figura 6. Destilación en ácido bórico, a) previo; b) posterior.

6. CÁLCULO

Se calcula el nitrógeno total (NT) en porcentaje en base seca (bs) según:

$$NT (\%_{bs}) = \frac{(A - B) \times C \times 280}{D \times MS}$$

Donde:

A= volumen titulado de la muestra (mL).

B= volumen titulado del blanco (mL).

C= concentración de la solución estándar de H_2SO_4 (mol/L).

D= masa de la muestra húmeda (g).

MS= materia seca (%).

280= factor de corrección (ver detalle en anexo VI).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* El enfriamiento del digesto puede provocar precipitación parcial o total, que se redisuelve con el agregado de agua antes de la destilación.

* El contenido de nitrógeno puede ser variable dependiendo del origen del residuo. En algunos residuos agropecuarios (ej.: estiércoles avícolas y porcinos) es elevado, por lo que queda a criterio del analista en reducir la masa del residuo a digerir o aumentar la concentración de la solución de H₂SO₄.

* En el caso de los residuos de baja densidad y que ocupan un volumen grande, donde el volumen de ácido no esté en contacto con la totalidad de la muestra, se sugiere agregar 8 mL de ácido sulfúrico.

* En el caso que la muestra presente diferente tamaño de partículas, se sugiere reducir el tamaño, homogeneizar y si es posible realizar una molienda en húmedo. La molienda en húmedo se puede utilizar con un molinillo de café.



8. BIBLIOGRAFÍA

BREMNER, J.M. 1996. NITROGEN-TOTAL. P 1085-1121. *IN*: SPARKS, D.L. *ET AL.* (EDS.) METHODS OF SOIL ANALYSIS. PART 3. CHEMICAL METHODS. SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA BOOK SERIES Nº 5. SOIL SCIENCE OF AMERICA, INC, AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY, INC, MADISON, WISCONSIN USA 1390 P.

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA Nº 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-9 NITRÓGENO KJELDAHL

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno Kjeldahl considera únicamente al nitrógeno orgánico más el nitrógeno de amonio (N-NH_4^+). Este valor es muy cercano al nitrógeno total, ya que los contenidos de nitratos (N-NO_3^-) son bajos respecto al contenido de nitrógeno orgánico, y en algunos casos despreciables principalmente en compost que hayan tenido una nitrificación deficiente o no haya finalizado la etapa de maduración. El nitrógeno orgánico es el potencialmente mineralizable a amonio. El nitrógeno Kjeldahl no debería usarse para el cálculo de la relación carbono:nitrógeno porque no considera el contenido de nitrógeno de nitrato (N-NO_3^-).

2. PRINCIPIO

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica sólo con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores, formándose sulfato de amonio. El producto de esta digestión se destila en exceso de hidróxido de sodio desprendiendo amoníaco. El amoníaco se destila por arrastre de vapor y se recoge en una solución de ácido bórico que posteriormente se titula con una solución de ácido sulfúrico valorada.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001g.**
- 3.2. **Bloque metálico para digestión de tubos de 42 mm de diámetro.**
- 3.3. **Destilador por arrastre de vapor.**
- 3.4. **Tubos de digestión y destilación de 250 mL y 42 mm de diámetro.**
- 3.5. **Erlemeyer de 100 mL.**
- 3.6. **Microbureta de 10 mL con graduaciones a intervalos de 0,01 mL o titulador automático.**

4. REACTIVOS

- 4.1. Acetanilida p.a. 99,9 % m/m.
- 4.2. Ácido salicílico p.a. ($C_7H_6O_3$).
- 4.3. Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).
- 4.4. Sulfato de potasio p.a. ($K_2SO_4 \cdot 5H_2O$).
- 4.5. Sulfato de cobre p.a. ($CuSO_4$).
- 4.6. Hidróxido de sodio p.a. (NaOH).
- 4.7. Verde de bromocresol p.a.
- 4.8. Rojo de metilo p.a.
- 4.9. Ácido bórico p.a. (H_3BO_3).
- 4.10. Etanol cc. (96 %).
- 4.11. Tiosulfato de sodio pentahidratado ($Na_2O_3S_2 \cdot 5H_2O$). Moler los cristales hasta que pasen a través de un tamiz de 0,25 mm de apertura.
- 4.12. Solución de ácido salicílico. Disolver 25 g de ácido salicílico en 1000 mL de ácido sulfúrico.
- 4.13. Mezcla catalítica. Mezclar 94 g de sulfato de potasio, y 6 g de sulfato de cobre. Porfirizar y homogeneizar.
- 4.14. Solución de hidróxido de sodio 40 %. Disolver 400 g de NaOH en un vaso de precipitado de 1000 mL que contenga 600 mL de agua destilada. Dejar enfriar y completar el volumen a 1000 mL.
- 4.15. Solución indicadora. Disolver 0,1 g de verde de bromocresol y 0,07 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol 96 %. El punto final de la reacción es del color verde al gris neutro.
- 4.16. Solución de ácido bórico con indicador. Disolver 20 g de ácido bórico en 800 mL de agua destilada precalentada a 60 °C. Dejar enfriar, trasvasar y aforar a un matraz de 1000 mL que contiene 20 mL de solución indicadora. La solución debe presentar una coloración púrpura rojiza y se ajusta el pH de la solución a 4,5 a 5,0 con una solución de hidróxido de sodio. Mezclar hasta lograr disolución total. Esta solución es estable por 30 días.
- 4.17. Solución de ácido sulfúrico 1 mol/L. Diluir 28 mL de ácido sulfúrico cc. en 500 mL de agua destilada.
- 4.18. Solución de ácido sulfúrico 0,1 mol/L. Diluir 100 mL de solución de ácido sulfúrico 1 mol/L en 1000 mL de agua destilada. Valorar mediante procedimiento de valoración de soluciones ácido y base (Anexo V).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pesar 0,5 a 1 g de muestra húmeda y colocar en un tubo de digestión. Si la muestra es heterogénea vea sugerencias y experiencias.
- 5.2. Colocar 0,02 g de acetanilida en otro tubo para el patrón.
- 5.3. Disponer otro tubo vacío para el blanco.
- 5.4. Agregar 1,5 g aproximadamente de mezcla catalítica en cada tubo.
- 5.5. Agregar 4 mL de ácido sulfúrico concentrado en cada tubo y mezclar para homogeneizar. En el caso en que el volumen de ácido no esté en contacto con la totalidad de la muestra, se sugiere agregar 4 mL más.
- 5.6. Digerir a 400°C hasta observar que la muestra digerida esté de color verde claro. La digestión puede tardar entre 2 a 5 horas. Dejar enfriar.
- 5.7. Agregar lentamente 20 mL de agua destilada en cada tubo.
- 5.8. Por cada tubo, agregar 20 mL de solución de ácido bórico con indicador en un erlenmeyer y colocarlo bajo el destilador, de manera que el extremo del condensador quede sumergido en esta solución.
- 5.9. Conectar el tubo de digestión en el destilador.
- 5.10. Agregar 20 mL de solución de hidróxido de sodio 40 % al tubo de digestión y destilar. Verificar que el destilado esté a temperatura ambiente.
- 5.11. Destilar hasta un volumen de 100 mL (Figura 6).
- 5.12. Titular el destilado con solución ácido sulfúrico 0,1 mol/L hasta el viraje de color verde a rosa - gris neutro. Alternativamente, puede usarse un titulador automático fijando el punto final a pH 4,60.

6. CÁLCULO

Se calcula el nitrógeno por Kjeldahl (N_K) en porcentaje en base seca según:

$$N_K (\%_{bs}) = \frac{(A - B) \times C \times 280}{D \times MS}$$

Donde:

A= volumen titulado de la muestra (mL).

B= volumen titulado del blanco (mL).

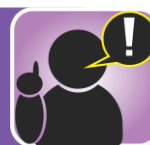
C= concentración de la solución estándar de H_2SO_4 (mol/L).

D= masa de la muestra húmeda (g).

MS= materia seca (%).

280= factor de corrección (ver detalle en Anexo VI).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS



* El método de determinación de nitrógeno Kjeldahl es muy utilizado en otros materiales, como suelo y vegetales, por lo que en muchos laboratorios esta metodología ya está adaptada y resulta fácil de aplicar. En el caso de utilizarla, el analista deberá tener en cuenta que no se considera el contenido de nitratos.

* Al igual que nitrógeno total, en el enfriamiento del digesto puede provocar precipitación parcial o total, que se redisuelve con el agregado de agua antes de la destilación.

* El contenido de nitrógeno puede ser variable dependiendo del origen del residuo. En algunos residuos agropecuarios (ej.: estiércoles avícolas y porcinos) es elevado por lo que queda a criterio del analista en reducir la masa del residuo a digerir o variar la concentración de la solución de ácido sulfúrico para su titulación. En el caso de residuos de baja densidad y que ocupen un volumen grande, donde el volumen de ácido no esté en contacto con la totalidad de la muestra, se sugiere agregar 8 mL de ácido sulfúrico.

* En el caso que la muestra presente diferente tamaño de partículas, se sugiere reducir el tamaño, homogeneizar y si es posible realizar una molienda en húmedo. La molienda en húmedo se puede utilizar con un molinillo de café.

* En el manual de algunos equipos destiladores, indican utilizar 20 mL de solución de ácido bórico por lo que cada analista deberá adaptar este método a partir de lo que indique el manual de su equipo. En la etapa de destilación, se deberá destilar hasta 100 mL y usar un erlenmeyer de mayor capacidad.

9. BIBLIOGRAFÍA

BREMNER, J.M. 1996. NITROGEN-TOTAL. P 1085-1121. *IN*: SPARKS, D.L. *ET AL.* (EDS.) METHODS OF SOIL ANALYSIS. PART 3. CHEMICAL METHODS. SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA BOOK SERIES N° 5. SOIL SCIENCE OF AMERICA, INC, AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY, INC, MADISON, WISCONSIN USA 1390 P.

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA N° 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-10 NITRÓGENO DE AMONIO Y NITRATO

1. INTRODUCCIÓN

El contenido de nitrógeno de amonio (N-NH_4^+) y nitrato (N-NO_3^-) indica la cantidad de nitrógeno disponible de los residuos orgánicos y compost. La importancia de esta determinación radica en conocer la cantidad de nitrógeno mineral disponible para su uso agrícola y determinar el grado de madurez y estabilidad del abono mediante indicadores. En el proceso de compostaje el amonio y nitrato son el resultado de la mineralización biológica. A medida que el proceso de compostaje avanza, y principalmente durante la maduración, el contenido de nitrato se incrementa mientras que contenido de amonio disminuye.

2. PRINCIPIO

En una alícuota de un extracto con solución de cloruro de potasio de la muestra húmeda, se realizan dos destilaciones sucesivas para obtener nitrógeno de amonio y nitrato, de forma separada. En la primera destilación se agrega óxido de magnesio y en la segunda se agrega aleación Devarda. El amoníaco generado por la reducción del N ante el agregado de los reactivos, se destila por arrastre de vapor y se recoge en una solución de ácido bórico que posteriormente se titula con una solución de ácido sulfúrico valorada.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Recipiente de 250 mL con tapa.**
- 3.2. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**
- 3.3. **Probeta de 100 mL.**
- 3.4. **Embudo.**
- 3.5. **Mufla.**
- 3.6. **Papel de filtro Whatman N.º 42 o equivalente.**
- 3.7. **Agitador recíproco.**

- 3.8. Destilador por arrastre de vapor.
- 3.9. Tubos de digestión y destilación de 250 mL y 42 mm de diámetro.
- 3.10. Erlemeyer de 100 mL.
- 3.11. Microbureta de 10 mL con graduaciones a intervalos de 0,01 mL o titulador automático.

4. REACTIVOS

- 4.1. Cloruro de potasio p.a. (KCl).
- 4.2. Aleación Devarda p.a.
- 4.3. Óxido de magnesio p.a. (MgO).
- 4.4. Verde de bromocresol p.a.
- 4.5. Rojo de metilo p.a.
- 4.6. Etanol cc. (96 %).
- 4.7. Ácido bórico p.a. (H₃BO₃).
- 4.8. Ácido sulfúrico cc. (H₂SO₄).
- 4.9. Solución extractante de cloruro de potasio 2 mol/L. Disolver 150 g de KCl en agua destilada y diluir a 1 L.
- 4.10. Óxido de magnesio. Incinerar MgO en una mufla a 600-700°C por 2 horas. Enfriar en un desecador y guardar en un frasco herméticamente cerrado.
- 4.11. Solución indicadora. Disolver 0,1 g de verde de bromocresol y 0,07 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol 96 %. El punto final de la reacción es del color verde al gris neutro.
- 4.12. Solución de ácido bórico con indicador. Disolver 20 g de ácido bórico en 800 mL de agua destilada precalentada a una temperatura aproximada de 60 °C. Dejar enfriar, trasvasar y aforar a un matraz de 1000 mL que contiene 20 mL de solución indicadora. La solución debe presentar una coloración púrpura rojiza y se ajusta el pH de la solución a 4,5 a 5,0 con una solución de hidróxido de sodio. Mezclar hasta lograr disolución total. Esta solución es estable por 30 días.
- 4.13. Solución de ácido sulfúrico 1 mol/L. Diluir 28 mL de ácido sulfúrico cc. en 500 mL de agua destilada.

- 4.14. **Solución de ácido sulfúrico 0,005 mol/L. Diluir 5 mL de solución de ácido sulfúrico 1 mol/L en 1000 mL de agua destilada. Valorar mediante procedimiento de valoración de soluciones ácido y base (Anexo V).**

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Calcular la masa de muestra húmeda equivalente a 40 g de muestra seca.**

$$A (g) = \frac{40 \times 100}{MS}$$

Donde:

A= masa de muestra húmeda (g).

MS= materia Seca (%).

- 5.2. **Calcular el volumen de solución extractante de KCl 2 mol/L necesario para generar una relación muestra: solución 1:5, según:**

$$B (mL) = 200 - (A - 40)$$

Donde:

B= volumen de extractante (mL).

- 5.3. **Pesar y registrar la masa de muestra húmeda calculada y colocar en el recipiente.**
- 5.4. **Agregar el volumen de solución extractante de KCl 2 mol/L calculado. Tapar.**
- 5.5. **Agitar por 20 minutos a 180 golpes por minuto.**
- 5.6. **Filtrar el extracto generado.**
- 5.7. **Colocar 10 a 20 mL del extracto filtrado en el tubo de destilación.**
- 5.8. **Colocar en otro tubo un blanco, el mismo volumen de la solución extractante de KCl 2 mol/L.**

- 5.9. Por cada tubo, agregar 10 mL de solución de ácido bórico con indicador en un erlenmeyer y colocarlo bajo el destilador, de manera que el extremo del condensador quede sumergido en esta solución.
- 5.10. Agregar 0,2 g de óxido de magnesio al tubo de destilación.
- 5.11. Conectar el tubo inmediatamente al destilador.
- 5.12. Destilar hasta un volumen de 50 mL.
- 5.13. Titular el destilado con solución ácido sulfúrico 0,005 mol/L hasta el viraje de color. Alternativamente, puede usarse un titulador automático fijando el punto final a pH 4,60. Este destilado se utilizará para determinar el contenido de nitrógeno de amonio.
- 5.14. Agregar 10 mL de solución de ácido bórico con indicador en otro erlenmeyer y colocarlo bajo el destilador, de manera que el extremo del condensador quede sumergido en esta solución.
- 5.15. Agregar en el mismo tubo que contenía óxido de magnesio, 0,2 g de aleación Devarda a través de un embudo de vástago largo.
- 5.16. Conectar nuevamente el tubo, de manera inmediata, al destilador.
- 5.17. Destilar hasta un volumen de 50 mL (Figura 6).
- 5.18. Titular el destilado con solución ácido sulfúrico 0,005 mol/L hasta el viraje de color. Alternativamente, puede usarse un titulador automático fijando el punto final a pH 4,60. Este destilado se utilizará para determinar el contenido de nitrógeno de nitrato.

6. CÁLCULO

El nitrógeno de amonio (N-NH₄⁺) y nitrógeno de nitrato (N-NO₃⁻) se expresa en mg/Kg en base seca a 70 ± 5 °C, según:

$$N - NH_4^+ \left(\frac{mg}{kg_{bs}} \right) = \frac{(A - B) \times C \times D \times 28000}{E \times F}$$

$$N - NO_3^- \left(\frac{mg}{kg_{bs}} \right) = \frac{(G - H) \times C \times D \times 28000}{E \times F}$$

Donde:

A= volumen titulado en la muestra con óxido de magnesio (mL).

B= volumen titulado del blanco con óxido de magnesio (mL).

C= concentración de la solución de ácido sulfúrico (mol/L).

D= volumen final del extracto KCl (200 mL).

E= masa de muestra seca (40 g).

F= volumen pipeteado del extracto (mL).

G= volumen titulado en la muestra con óxido de magnesio y aleación Devarda (mL).

H= volumen titulado del blanco con óxido de magnesio y aleación Devarda (mL).

28000= factor de corrección (ver detalle en Anexo VI).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS



* El extracto puede prepararse con menor cantidad de muestra húmeda y extractante, manteniendo siempre la relación 1:5 (por ej.: 20 g en 100 mL).

* Para el caso de muestras de residuos crudos que presenten contenido de N-NH_4^+ por encima de 500 mg/kg (por ej.: guano de aves ponedoras, cama de parrilleros, etc.) se sugiere preparar el extracto con una relación muestra: solución extractante de 1:10 y utilizar una solución de ácido sulfúrico más concentrada para su titulación. De esta manera, se evita el consumo excesivo de solución ácida.

* El óxido de magnesio se puede agregar a través de un embudo de vástago lo suficientemente largo para llegar cerca del fondo del tubo. O bien, pueden agregarse 20 mL de solución de hidróxido de sodio al 40 % al tubo de digestión.

* El proceso de filtrado puede reemplazarse con centrifugación, a 10000 rpm por 15 minutos.

* El contenido de nitrato en algunas muestras puede ser muy bajo, por lo que se sugiere utilizar una solución de ácido sulfúrico más diluida. Para el control de la destilación del N-NH_4^+ y N-NO_3^- se puede colocar 10 ml de una solución patrón de 10 ppm de N-NH_4^+ y N-NO_3^- en un tubo de destilación. Se procede a la destilación en las dos etapas tal como se describió en el método. La recuperación de la solución deber ser entre 95 y 105 %.

Continúa en la página siguiente

* En el manual de algunos equipos destiladores, indican utilizar 20 mL de solución de ácido bórico por lo que cada analista deberá adaptar este método a partir de lo que indique el manual de su equipo. En la etapa de destilación, se deberá destilar hasta 100 mL y usar un erlenmeyer de mayor capacidad.

8. BIBLIOGRAFÍA

SADZAWKA R., A., CARRASCO R., M.A., GREZ Z., R. & MORA G., M.L. 2005. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE COMPOST. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, SERIE ACTAS INIA Nº 30, SANTIAGO, CHILE, 152 P.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-11 FÓSFORO TOTAL

1. INTRODUCCIÓN

Los residuos orgánicos pueden presentar diferente composición química, dependiendo del origen, por lo que podrían resultar nutrientes útiles para su uso agrícola. El fósforo es un macronutriente importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas.

En este compendio se describen dos métodos de digestión (parte A) y de colorimetría (parte B) para la determinación de fósforo total. En la parte A se describen el método de digestión por calcinación y el de digestión por microondas, y la elección dependerá de los equipos e instrumentos que disponga en el laboratorio. En la parte B se describen el método del ácido ascórbico y del vanadomolibdofosfórico, con diferentes rangos de detección del fósforo total. El método colorimétrico del ácido ascórbico y solución de molibdato de amonio es adecuado para concentraciones bajas de fósforo, en un rango de 0,01 a 6 mg/L. Para concentraciones mayores se puede diluir la solución digerida u optar por el método de ácido vanadomolibdofosfórico que es adecuado para concentraciones más altas de fósforo, para un rango de 1 a 20 mg/L.

PARTE A: DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

A1. DIGESTION POR CALCINACIÓN

2. PRINCIPIO

Una porción de la muestra se calcina a 550 °C. Para transformar el compuesto fosforado orgánico a ortofosfato soluble, se agrega un alícuota de ácido sobre la muestra calcinada en una placa calefactora.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001g.**
- 3.2. **Crisol de 30 a 40 mL con tapa.**
- 3.3. **Placa calefactora.**
- 3.4. **Matraz de 50 mL.**
- 3.5. **Papel de filtro libre de fósforo, Whatman N.º 42 o equivalente.**
- 3.6. **Embudo de plástico o vidrio.**
- 3.7. **Mufla.**
- 3.8. **Pipeta graduada de 5 mL.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Ácido nítrico cc. (HNO_3).**
- 4.2. **Ácido clorhídrico cc. (HCl).**
- 4.3. **Solución de ácido nítrico 1 + 1. Colocar 250 mL de agua destilada y agregar 250 mL de ácido nítrico cc.**
- 4.4. **Solución de ácido clorhídrico 1 + 1. Colocar 250 mL de agua destilada y agregar 250 mL de ácido clorhídrico cc.**

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Pesar 1 g de muestra seca y molida y colocar en el crisol.**
- 5.2. **Colocar en mufla a 550°C por 4 horas. Dejar enfriar.**
- 5.3. **Agregar 4 mL de solución de ácido nítrico 1+1.**
- 5.4. **Evaporar el exceso de ácido nítrico en placa calefactora a 120 °C.**
- 5.5. **Volver a colocar en mufla a 550 °C por 1 hora. Dejar enfriar.**
- 5.6. **Agregar 10 mL de solución de ácido clorhídrico 1+1 al crisol. Luego, colocar en placa calefactora hasta una reducción del volumen del 50 %.**

- 5.7. **Trasvasar a un matraz de 50 mL y enjuagar el crisol dos veces con agua destilada a través de un embudo con papel de filtro. Dejar enfriar nuevamente.**
- 5.8. **Enrasar con agua destilada.**

A2. DIGESTION POR MICROONDAS

2. PRINCIPIO

Una porción de la muestra se digiere en ácido mediante calentamiento por microondas para transformar el compuesto fosforado orgánico a ortofosfato soluble.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipamiento específico y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001g.**
- 3.2. **Pipeta de 10 mL.**
- 3.3. **Matraz 50 mL.**
- 3.4. **Papel de filtro libre de fósforo, Whatman N.º 42 o equivalente.**
- 3.5. **Embudo de plástico o vidrio.**
- 3.6. **Digestor de muestras ácidas por microondas y sus accesorios.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Ácido nítrico cc. (HNO₃).**

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Pesar 0,5 g de muestra seca y molida y colocar en el tubo de digestión de microondas.**

- 5.2. **Agregar cuidadosamente 10 mL de ácido nítrico. Dejar destapado hasta que la reacción vigorosa haya finalizado. Llevar a un volumen final de 50 ml en cada tubo.**
- 5.3. **Cerrar y conectar el tubo al equipo microondas.**
- 5.4. **Digerir la muestra por un período de 10 minutos a 175 °C. Deberá consultarse con el proveedor del equipo de microondas, los tiempos y volúmenes recomendados de rampa de temperatura y presión interna de los tubos de digestión para asegurar una digestión completa de la muestra.**
- 5.5. **Trasvasar cuantitativamente a un matraz de 50 mL a través de un embudo con papel de filtro.**

6. BIBLIOGRAFÍA

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

PARTE B. DETERMINACIÓN COLORIMÉTRICA

B1. MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

2. PRINCIPIO

El molibdato de amonio y el tartrato de antimonio potásico reaccionan en medio ácido con el ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico que se reduce con ácido ascórbico produciendo un color azul intenso. El color es estable por varias horas.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Matraz 50 mL.**
- 3.2. **Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.**
- 3.3. **Espectrofotómetro capaz de medir a 880 nm.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).**
- 4.2. **Fosfato diácido de potasio anhidro p.a. (KH_2PO_4).**
- 4.3. **Tartrato de antimonio-potasio hemihidratado p.a. ($K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 H_2O$).**
- 4.4. **Molibdato de amonio tetrahidratado p.a. ($(NH_4^+)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$).**
- 4.5. **Ácido ascórbico p.a.**
- 4.6. **Solución patrón madre de fósforo 50 mg/L. Disolver 220 mg de fosfato diácido de potasio anhidro en agua destilada y diluir a 1000 mL.**
- 4.7. **Solución de fósforo patrón 2,5 mg/L. Diluir 50 mL de solución patrón madre de fósforo 50 mg/L y llevar a 1000 mL con agua destilada.**
- 4.8. **Ácido sulfúrico 5 N. Colocar 200 mL de agua destilada en matraz aforado de 500 mL y adicionarle lentamente 70 mL de ácido sulfúrico cc. Homogeneizar y enfriar.**
- 4.9. **Solución de tartrato de antimonio-potasio hemihidratado. Disolver 1,37 g de tartrato de antimonio potasio hemihidratado con 400 mL de agua destilada en un vaso de precipitado. Si no se disuelve usar un agitador magnético. Trasvasar cuantitativamente a matraz aforado y llevar a 500 mL. Conservar la solución en frasco de vidrio con tapa esmerilada y guardar en heladera.**
- 4.10. **Solución de molibdato de amonio al 4 %. Disolver 20 g de molibdato de amonio tetrahidratado en 500 mL de agua destilada. Conservar en frasco de vidrio con tapa esmerilada y guardar en heladera.**

- 4.11. **Solución de ácido ascórbico 0,01 M.** Disolver 1,76 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua destilada. Conservar en conservar en heladera y es estable por una semana.
- 4.12. **Reactivo combinado.** Agregar 50 mL de solución de sulfúrico 5 N, 5 mL de solución de tartrato de antimonio-potasio hemihidratado, 15 mL de solución de molibdato de amonio y 30 mL de solución de ácido ascórbico 0,01 M. Esta solución tiene un volumen de 100 mL y se prepara al momento de la determinación.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pipetear 1 a 5 mL de la muestra digerida dependiendo de la concentración estimada de fósforo y colocar en un matraz 50 mL.
- 5.2. Paralelamente, preparar una escala de patrones en matraces de 50 mL según:

Tabla 1. Volumen de la solución patrón (2,5 mg de P/L) para cada concentración de la escala de patrones.

| Concentración (mg P/L) | Solución patrón (mL) |
|------------------------|----------------------|
| 0 | 0 |
| 0,1 | 2 |
| 0,2 | 4 |
| 0,5 | 10 |
| 0,8 | 16 |

- 5.3. Agregar agua hasta un volumen aproximado de 40 mL a los matraces que contengan las muestras y la escala de patrones.
- 5.4. Agregar 8 mL de reactivo combinado a todos los matraces.
- 5.5. Enrasar con agua destilada.
- 5.6. Luego de 30 minutos leer en espectrofotómetro a 880 nm (Figura 7).



Figura 7. Escala de patrones de fósforo en mg/L por el método del ácido ascórbico.

B2. MÉTODO DEL ÁCIDO VANADOMOLIBDOFOSFÓRICO

2. PRINCIPIO

El molibdato de amonio reacciona en medio ácido con el ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico. En presencia de vanadio se forma ácido vanadomolibdofosfórico de coloración amarilla. El color es estable por varios días y la intensidad no es afectada por la temperatura del laboratorio.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Matraz 50 mL.**
- 3.2. **Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.**
- 3.3. **Espectrofotómetro capaz de medir a 400 a 420 nm.**

4. REACTIVOS

- 4.1. Ácido nítrico cc. (HNO_3).
- 4.2. Molibdato amónico tetra hidratado p.a. ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$).
- 4.3. Fosfato diácido de potasio anhidro p.a. (KH_2PO_4).
- 4.4. Metavanadato de amonio p.a. (NH_4VO_3).
- 4.5. Solución patrón de fósforo 50 mg/L. Disolver 220 mg de fosfato diácido de potasio anhidro (KH_2PO_4) en agua destilada y diluir a 1000 mL.
- 4.6. Reactivo vanadato-molibdato. Solución A: disolver 25 g de molibdato amónico tetra hidratado en 300 mL de H_2O destilada. Solución B: disolver 1,25 g de metavanadato de amonio en 300 mL de agua destilada caliente. Dejar enfriar y añadir a esta solución 250 mL de ácido nítrico. Dejar enfriar e incorporar la solución A sobre la B. Mezclar y llevar a volumen de 1000 mL.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pipetear 1 a 5 mL de la muestra digerida dependiendo de la concentración estimada de fósforo y colocar en un matraz 50 mL.
- 5.2. Preparar una escala de patrones en matraces de 50 mL según:

Tabla 2. Volumen de la solución patrón para cada concentración de la escala de patrones.

| Concentración (mg P/L) | mL solución patrón (50 mg P/L) |
|------------------------|--------------------------------|
| 0 | 0 |
| 4 | 4 |
| 8 | 8 |
| 12 | 12 |
| 16 | 16 |

- 5.3. Agregar agua hasta un volumen aproximado de 35 mL.
- 5.4. Agregar 10 mL de reactivo vanadato-molibdato a todos los matraces.
- 5.5. Enrasar con agua destilada.
- 5.6. A partir de los 10 minutos, leer en espectrofotómetro, a longitud de onda de 400 a 470 nm dependiendo de la sensibilidad deseada (Figura 8):

Tabla 3. Longitud de onda (nm) para los diferentes rangos de concentración fósforo.

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



Figura 8. Escala de patrones de fósforo en mg/L por el método del ácido vanadomolibdofosfórico.

6. CÁLCULO

- 6.1. Graficar una curva de calibración con las concentraciones de fósforo, en mg/L, de la escala de patrones en el eje de las abscisas (eje x) y las absorbancias en el eje de las ordenadas (eje y).
- 6.2. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,99.

El fósforo total (PT) se expresa en % y mg/kg en base seca (bs) según:

$$PT \left(\frac{mg}{Kg_{bs}} \right) = \frac{A \times B \times C}{D \times E}$$

$$PT(\%) = \frac{PT \left(\frac{mg}{Kg_{bs}} \right)}{10000}$$

Donde:

A= concentración de fósforo, en mg/L, de la muestra coloreada obtenida a partir de la ecuación de regresión obtenida por la escala de patrones.

B= volumen de la digestión (mL).

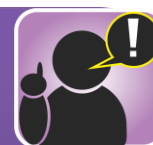
C= volumen del matraz utilizado en la colorimetría (50 mL).

D= masa de muestra seca y molida usada en la digestión (g).

E= volumen pipeteado del extracto digerido para el método colorimétrico (mL).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* En la determinación del fósforo es muy importante la limpieza del material, principalmente en la etapa colorimétrica. Ver Anexo I.



* En el caso de la colorimetría mediante el método del ácido ascórbico, otra manera de preparar el reactivo combinado es mediante la preparación de la solución A con 500 mL de solución de sulfúrico 5 N; 50 mL de solución de tartrato de antimonio-potasio, 150 mL de solución de molibdato amónico. La solución A puede durar hasta 1 mes a 4 °C. En el momento de realizar la técnica agregar a esta solución 300 mL de solución de ácido ascórbico.

8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 4500 A. VALOR DE PH. 17TH EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 1994. METHOD 3051A: MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SEDIMENTS, SLUDGES, SOILS, AND OILS. SW-846: TEST METHODS FOR EVALUATION SOLID WASTE, PHYSICAL AND CHEMICAL METHODS. OFFICE OF SOLID WASTE.

USDA, USCC. 2002. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). METHOD 04.03. TOTAL PHOSPHORUS. EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON.

S-12 CATIONES MAYORITARIOS Y ELEMENTOS TRAZAS TOTALES

1. INTRODUCCIÓN

Los residuos orgánicos pueden presentar diferente composición química, dependiendo del origen. Entre los cationes mayoritarios se puede encontrar potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na) mientras que entre los elementos trazas se puede encontrar hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn). Estos elementos, en rangos normales, podrían resultar beneficiosos para una valorización agronómica, pero si esos elementos se encuentran en exceso, pueden resultar contaminantes y perjudiciales para el medio ambiente.

2. PRINCIPIO

La muestra digerida en ácido obtenida por digestión por calcinación (A1-S-11) o digestión por microondas (A2-S-11) se cuantifican los cationes mayoritarios y elementos trazas totales por absorción atómica o plasma acoplado inductivamente (ICP).

3. PROCEDIMIENTO

- 3.1. A partir del extracto digerido obtenido para la determinación de fósforo, determinar la concentración de K, Ca, Mg y Na y elementos trazas (Fe, Cu, Mn, Zn) en espectrofotómetro de absorción atómica.**

4. CÁLCULO

El contenido del elemento químico total (ET) se expresa en mg/kg en base seca (bs) según:

$$ET \left(\frac{mg}{Kg_{bs}} \right) = \frac{A \times B \times C}{D}$$

Donde:

A= lectura de la concentración del elemento en la muestra digerida y diluida (mg/L).

B= dilución realizada para la lectura del elemento.

C= volumen de la digestión (mL).

D= masa de muestra seca y molida usada en la digestión (g).

Se puede expresar en % en base seca (bs) según:

$$ET (\%_{bs}) = \frac{ET \left(\frac{mg}{Kg} \right)}{10000}$$

5. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* En el caso que el extracto haya sido digerido por el método de digestión por microondas con ácido nítrico, también podrán determinarse los siguientes elementos: aluminio, magnesio, arsénico, antimonio, manganeso, berilio, bario, molybdeno, cadmio, níquel, cromo, cobalto, plata, plomo, molibdeno, vanadio, selenio, talio.

* El analista deberá utilizar las lámparas de catálogo correspondientes a cada elemento, realizar diluciones, curvas de calibración específicas para cada elemento y agregar soluciones supresoras de ionización (ej. solución de lantano o cesio) para K, Ca y Mg dependiendo de las indicaciones del manual de cada equipo.



6. BIBLIOGRAFÍA

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, USA, HOUSTON

S-13 BIOENSAYO DE FITOTOXICIDAD

1. INTRODUCCIÓN

El uso del bioensayo de fitotoxicidad permite una evaluación integral de la toxicidad de residuos orgánicos y compost. La mortalidad de las plántulas o el retraso del crecimiento pueden estar afectados por la presencia de distintos compuestos tóxicos, tal como sucede comúnmente en un compost inmaduro. El contenido de amonio, sales solubles y ácidos orgánicos en altas concentraciones inhiben el desarrollo de las raíces y la absorción de nutrientes.

En este compendio se describen dos métodos para determinar fitotoxicidad: el método abreviado (PARTE A) y el método para determinar el grado de toxicidad (PARTE B).

PARTE A: MÉTODO ABREVIADO PARA DETERMINAR FITOTOXICIDAD

2. PRINCIPIO

Se exponen semillas de una especie seleccionada a un extracto acuoso de residuo orgánico o compost (elutriado) para evaluar la toxicidad sobre la germinación y la elongación radicular durante los primeros días del desarrollo.

Este método abreviado, permite determinar si una muestra es fitotóxica, mediante los índices de germinación (IG) y de crecimiento relativo (ICR). Las principales normativas internacionales que establecen calidad de compost, se basan en este tipo de método para determinar si una muestra es tóxica.

Se requiere realizar un control positivo, el cual determina la sensibilidad de las semillas, y un control negativo. Para ello, las semillas son expuestas a diferentes diluciones de un tóxico de referencia (Zn), determinándose la concentración inhibitoria al 50 % (CI₅₀) en la curva de concentración-respuesta. La exposición de las semillas al elutriado y el control positivo pueden llevarse a cabo en simultáneo.

3. MATERIALES

Este método requiere de los siguientes equipos y materiales de laboratorio:

- 3.1. Embudo.
- 3.2. Papel de filtro.
- 3.3. Pinzas.
- 3.4. Regla o calibre.
- 3.5. Bandeja de aluminio.
- 3.6. Semillas lechuga (*Lactuca sativa* L.) o rabanito (*Raphanus sativus*) libres de tratamiento químico.
- 3.7. Placas de Petri 90 mm de diámetro.
- 3.8. Pipetas Pasteur.
- 3.9. Papel de germinación de alta calidad Whatman, Munktell o similar.
- 3.10. Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.
- 3.11. Matraz de 250 mL y matraces de 50 mL.
- 3.12. Estufa de secado.
- 3.13. Balanza analítica con precisión de $\pm 0,001$ g.
- 3.14. Agitador orbital.
- 3.15. Incubadora.

4. REACTIVOS

- 4.1. Cloruro de zinc p.a. (ZnCl_2).
- 4.2. Solución patrón de zinc 1000 mg/L. Disolver 0,52 g de cloruro de zinc (ZnCl_2) en un volumen de 250 mL de agua destilada.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Control positivo y negativo

- 5.1.1. Preparar 5 soluciones de zinc de diferentes concentraciones: 18,75; 37,5; 75; 150 y 300 mg Zn/L. El control negativo contiene sólo agua destilada y representa la concentración de 0 mg Zn/L.

- 5.1.2. Colocar el papel de germinación dentro de una placa de Petri.
- 5.1.3. Agregar 4 mL de agua destilada (control negativo) y de las soluciones de Zn (control positivo) sobre el papel.
- 5.1.4. Colocar 15 semillas, tapar las placas de Petri y rotular. Realizar cada concentración por triplicado.
- 5.1.5. Colocar las placas en una incubadora a 22 ± 2 °C en oscuridad.
- 5.1.6. A los 5 días, contar las semillas que hayan germinado y medir el largo de las radículas. Se considera semilla germinada cuando haya aparición visible de la radícula (≥ 1 mm de longitud).
- 5.1.7. Determinar la concentración de Zn que inhibe el 50 % la germinación y la elongación radicular (CI_{50}).

5.2. Bioensayo de toxicidad

- 5.2.1. Secar la muestra húmeda en una bandeja de aluminio en estufa a 50 ± 5 °C hasta masa constante.
- 5.2.2. Preparar un elutriado mezclando una porción de la muestra seca con agua destilada en una relación 1:10 (masa: volumen).
- 5.2.3. Agitar durante 3 horas a temperatura ambiente.
- 5.2.4. Filtrar el elutriado (Figura 9).
- 5.2.5. Colocar el papel de germinación dentro de una placa de Petri.
- 5.2.6. Agregar 4 mL del elutriado sobre el papel de germinación.
- 5.2.7. Colocar 15 semillas, tapar las placas de Petri y rotular.
- 5.2.8. Colocar las placas en una incubadora a 22 ± 2 °C en oscuridad.
- 5.2.9. A los 5 días, contar las semillas que hayan germinado y medir el largo de las radículas.
- 5.2.10. Calcular el porcentaje de inhibición de la germinación y de elongación radicular, el índice de crecimiento relativo y de germinación por muestra.



Figura 9. Preparación de los elutriados, a) agitación; b) filtración.

6. CÁLCULO

6.1. Cálculos para el control positivo y negativo

6.1.1. Determinar el porcentaje de germinación (GE) sólo en el control negativo según:

$$GE (\%) = \frac{A}{B} \times 100$$

Donde:

A= número de semillas germinadas en la placa de Petri.

B= número de semillas colocadas en la placa de Petri.

6.1.2. Determinar el coeficiente de variación de la elongación radicular (CV_{ER}) sólo en el control negativo según:

$$CV_{ER} (\%) = \frac{C}{D} \times 100$$

Donde:

C= desviación estándar de la elongación radicular.

D= promedio de la longitud radicular (mm).

6.1.3. Determinar el porcentaje de inhibición de la germinación (I_{GE}) en cada concentración según:

$$I_{GE}(\%) = \frac{(E - F)}{E} \times 100$$

Donde:

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

F= número de semillas germinadas en cada concentración de Zn.

6.1.4. Graficar una curva concentración-respuesta con las concentraciones de Zinc, en mg/L, en el eje de las abscisas (eje x) y los porcentajes de inhibición de la germinación en el eje de las ordenadas (eje y).

6.1.5. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.

6.1.6. Determinar la concentración a la que se inhibe el 50% de la germinación (CI_{50}) a partir de la ecuación de regresión.

6.1.7. Determinar el porcentaje de inhibición de la elongación radicular (I_{ER}) según:

$$I_{ER}(\%) = \frac{(G - H)}{G} \times 100$$

Donde:

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

H= promedio de la longitud radicular en cada concentración de Zn (mm).

6.1.8. Graficar una curva concentración-respuesta con las concentraciones de zinc, en mg/L, en el eje de las abscisas (eje x) y los porcentajes de inhibición de la elongación radicular en el eje de las ordenadas (eje y).

6.1.9. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.

6.1.10. Determinar la concentración a la que se inhibe el 50 % de la elongación radicular (CI_{50}) a partir de la ecuación de regresión.

Informar los valores de CI_{50} estimados para la germinación y la elongación radicular en el control positivo (Zn como tóxico de referencia).

6.2. Cálculos para el bioensayo de toxicidad

6.2.1. Determinar el porcentaje de inhibición de la germinación (I_{GE}) y de elongación radicular (I_{ER}) en cada placa de Petri, según:

$$I_{GE}(\%) = \frac{(E - I)}{E} \times 100$$

Donde:

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

I= número de semillas germinadas en el elutriado de la muestra.

$$I_{ER}(\%) = \frac{(G - J)}{G} \times 100$$

Donde:

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

J= promedio de la longitud radicular en el elutriado de la muestra (mm).

6.2.2. Calcular el índice de crecimiento relativo (ICR) según:

$$ICR = \frac{J}{G}$$

Donde:

J= promedio de la longitud radicular en el elutriado de la muestra (mm).

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

Los valores de referencia del ICR son:

Inhibición de la elongación radicular cuando $0 \leq ICR < 0,8$

No existen efectos significativos cuando $0,8 \leq ICR \leq 1,2$

Estimulación de la elongación radicular cuando $ICR > 1,2$

6.2.3. Calcular el índice de germinación (IG) según:

$$IG (\%) = ICR \times \frac{I}{E} \times 100$$

Donde:

ICR= índice de crecimiento relativo.

I= número de semillas germinadas en el elutriado de la muestra.

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

El valor de referencia es:

Inhibición cuando IG < 80%

PARTE B: MÉTODO PARA DETERMINAR EL GRADO DE TOXICIDAD

2. PRINCIPIO

Se exponen semillas de una especie seleccionada a un rango de concentraciones del extracto acuoso de residuo orgánico o compost (elutriado) para evaluar la toxicidad sobre la geminación y la elongación radicular durante los primeros días del desarrollo. Este método es más laborioso, pero a diferencia del anterior, permite determinar el grado de toxicidad de la muestra, mediante otros índices de toxicidad. Esta metodología es aplicable para evaluar los efectos fitotóxicos de los residuos crudos o los productos obtenidos luego de un proceso de tratamiento (compost, entre otros).

Se requiere realizar un control positivo, el cual determina la sensibilidad de las semillas. Para ello, las semillas son expuestas a diferentes diluciones de un tóxico de referencia (Zn), determinándose la concentración inhibitoria al 50 % (CI₅₀) en la curva de concentración-respuesta.

La exposición de las semillas a las diferentes concentraciones del elutriado y el control positivo pueden llevarse a cabo en simultáneo.

3. MATERIALES

Se utilizan los mismos materiales que en la parte A.

4. REACTIVOS

Se utilizan los mismos reactivos que en la parte A.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Control positivo y negativo

Se realiza el mismo procedimiento que en la parte A (puntos 5.1. y 5.2.).

5.2. Bioensayo de toxicidad

- 5.2.1. Secar la muestra en una bandeja de aluminio en estufa a 50 ± 5 °C hasta masa constante.
- 5.2.2. Preparar un elutriado mezclando una porción de la muestra seca y molida con agua destilada en una relación 1:10 (masa: volumen).
- 5.2.3. Agitar durante 3 horas a temperatura ambiente.
- 5.2.4. Filtrar el elutriado (Figura 9).
- 5.2.5. Preparar al menos 5 diluciones, en porcentaje y volumen a volumen (v/v) del elutriado, considerando al elutriado como concentración al 100 %.
- 5.2.6. Colocar el papel de germinación dentro de cada placa de Petri.
- 5.2.7. Colocar 4 mL de una de las concentraciones del elutriado sobre el papel.
- 5.2.8. Colocar 15 semillas, tapar las placas de Petri y rotular. Realizar cada concentración por triplicado. Repetir el procedimiento para cada una de las concentraciones del efluente.
- 5.2.9. Colocar las placas en una incubadora a 22 ± 2 °C en oscuridad.
- 5.2.10. A los 5 días, contar las semillas que hayan germinado y medir el largo de las radículas. Se considera semilla germinada cuando haya aparición visible de la radícula (≥ 1 mm de longitud).

5.2.11. Calcular porcentaje de inhibición de la germinación y elongación radicular, el índice de crecimiento relativo y germinación por muestra y el grado de toxicidad de la muestra.

6. CÁLCULO

6.1. Cálculos para el control positivo y negativo

Se realiza el mismo procedimiento que en la parte A.

6.2. Cálculos para el bioensayo de toxicidad

6.2.1. Determinar el porcentaje de inhibición de la germinación (I_{GE}) y el porcentaje de inhibición de la elongación radicular (I_{ER}) según:

$$I_{GE}(\%) = \frac{(E - I)}{E} \times 100$$

Donde:

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

I= número de semillas germinadas en el elutriado de la muestra.

$$I_{ER}(\%) = \frac{(G - J)}{G} \times 100$$

Donde:

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

J= promedio de la longitud radicular en el elutriado de la muestra (mm).

6.2.2. Calcular el índice de crecimiento relativo (ICR) según:

$$ICR = \frac{J}{G}$$

Donde:

J= promedio de la longitud radicular en el elutriado de la muestra (mm).

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

Los valores de referencia del ICR son:

Inhibición de la elongación radicular cuando $0 \leq ICR < 0,8$

No existen efectos significativos cuando $0,8 \leq ICR \leq 1,2$

Estimulación de la elongación radicular cuando $ICR > 1,2$

6.2.3. Calcular el índice de germinación (IG) según:

$$IG (\%) = ICR \times \frac{I}{E} \times 100$$

Donde:

ICR= índice de crecimiento relativo.

I= número de semillas germinadas en el elutriado de la muestra.

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

El valor de referencia es:

Inhibición cuando $IG < 80\%$

6.2.4. Determinación del grado de toxicidad de la muestra

El grado de toxicidad de la muestra se determina con los índices de fitotoxicidad $RGIC_{0,8}$ (*Relative Growth Index Concentration 0.8*) y $GIC_{80\%}$ (*Germination Index Concentration 80 %*) que corresponden a la concentración del elutriado a la cual el ICR es igual a 0,8 y el IG es igual a 80 %, respectivamente:

$$ICR = 0,8 (RGIC_{0,8})$$

$$IG = 80 \% (GIC_{80\%})$$

6.2.5. Graficar una curva de concentración-respuesta, mostrando las diluciones del elutriado en el eje de las abscisas (eje x) y los valores de ICR en el eje de las ordenadas (eje y).

- 6.2.6. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.
- 6.2.7. Determinar la concentración a la que ICR es igual que 0,8 a partir de la ecuación de regresión ($RGIC_{0,8}$).
- 6.2.8. Graficar una curva concentración-respuesta, mostrando las diluciones del elutriado en el eje de las abscisas (eje x) y los valores de IG en el eje de las ordenadas (eje y).
- 6.2.9. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.
- 6.2.10. Determinar la concentración a la que IG es igual que 80 % a partir de la ecuación de regresión ($GIC_{80\%}$).

Los valores de referencia de los índices de fitotoxicidad se clasifican según los efectos adversos observados como:

Efectos inhibitorios cuando $RGIC_{0,8}$ y/o $GIC_{80\%} \leq 100\%$

Sin efectos inhibitorios cuando $RGIC_{0,8}$ y/o $GIC_{80\%} > 100\%$

Los valores de $RGIC_{0,8}$ y $GIC_{80\%}$ cercanos a 100 %, indican que la muestra de compost presenta baja toxicidad mientras que los valores cercanos a 0 %, indican alta toxicidad.

Los puntos finales toxicológicos conocidos como NOEC y LOEC, se determinan a partir de un análisis estadístico, utilizando los valores de los porcentajes de germinación y de elongación radicular de cada placa de Petri. Si se cumplen los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se puede realizar un análisis de la varianza (ANOVA) donde los porcentajes de germinación y de elongación radicular corresponden a la variable dependiente y las concentraciones del elutriado la variable de clasificación. Posteriormente, se selecciona el método de comparación de medias *post hoc* (ej. Dunnet) para determinar si existen diferencias significativas entre cada una de las concentraciones de elutriado y el control negativo.

A partir de los porcentajes de germinación y de elongación radicular que resulten diferentes significativamente, se indican:

NOEC (*no observed effect concentration*) = máxima concentración a la que no se observan efectos adversos.

LOEC (*lowest observed effect concentration*) = mínima concentración a la que se observan efectos adversos.

7. ACEPTABILIDAD Y CONTROLES DE CALIDAD DE LA PRUEBA

En el control negativo, el porcentaje de germinación debe ser superior al 90 % y el CV en la elongación radicular debe ser menor al 30 %.

El control positivo también es utilizado como control de calidad del bioensayo de inhibición de la germinación y de la elongación radicular. Por ello, se deben informar los valores de CI_{50} estimados para la germinación y la elongación radicular en el control positivo (tóxico de referencia).

8. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Entre otras especies que se pueden utilizar están el ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) y el berro (*Lepidium sativum* L.).

* Es muy importante realizar, como mínimo, por triplicado cada muestra debido a que se trata de una determinación biológica.

* Es necesario informar los valores de los puntos finales toxicológicos y de los índices de fitotoxicidad para cada muestra analizada. De esta manera, se deja registro de la sensibilidad de la especie utilizada y del grado de toxicidad de la muestra.

* En el caso que no se puedan medir todas las placas del ensayo al finalizar los 5 días de incubación, las placas pueden conservarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su medición. En un mismo experimento, se debe aplicar el mismo método de medición para que los resultados sean comparables.



Continúa en la página siguiente

* Las curvas concentración-respuesta pueden ser ajustadas mediante regresiones lineales o no lineales y con las variables transformadas o no, dependiendo de los datos obtenidos.

* Las semillas utilizadas pueden presentar fluctuaciones en la viabilidad debido a una mala conservación o antigüedad de las mismas. Por ello, es importante la realización del control positivo e informar los resultados de los controles de calidad.

* Se recomienda conservar las semillas en un lugar fresco y seco.

9. BIBLIOGRAFÍA

ALVARENGA, P., PALMA, P., GONCALVES, A.P., FERNANDES, R.M., CUNHA-QUEDA, A.C., DUARTE, E. & VALLINI, G. 2007. EVALUATION OF CHEMICAL AND ECOTOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BIODEGRADABLE ORGANIC RESIDUES FOR APPLICATION TO AGRICULTURAL LAND. *ENVIRON. INT.*, 33, 505-513.

SOBRERO, C. & RONCO, A.E. 2004. ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON SEMILLAS DE *L. SATIVA*. *IN: CASTILLO MORALES, G. (ED.). ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS: ESTANDARIZACIÓN, INTERCALIBRACIÓN, RESULTADOS Y APLICACIONES, MEXICO, PP. 71-79.*

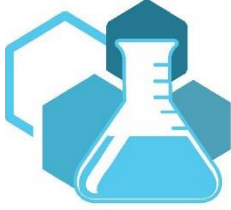
TIQUIA, S.M., TAM, N. & HODGKISS, I. 1996. EFFECTS OF COMPOSTING ON PHYTOTOXICITY OF SPENT PIG-MANURE SAWDUST LITTER. *ENVIRON. POLLUT.*, 93, 249-256.

USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). METHOD 05.05. BIOLOGICAL ASSAYS. EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, HOUSTON, USA.

YOUNG, B.J., RIERA, N.I., BEILY, M.E., BRES, P.A., CRESPO, D.C. & RONCO, A.E. 2012. TOXICITY OF THE EFFLUENT FROM AN ANAEROBIC BIOREACTOR TREATING CEREAL RESIDUES ON *LACTUCA SATIVA*. *ECOTOXICOL. ENVIRON. SAFE.*, 76, 182-186.

YOUNG, B.J., RIZZO, P.F., RIERA, N.I., DELLA TORRE, V., LOPEZ, V.A., MOLINA, C.D., FERNANDEZ, F.E., CRESPO, D.C., BARRENA, R., KOMILIS, D. & SANCHEZ, A. 2016. DEVELOPMENT OF PHYTOTOXICITY INDEXES AND THEIR CORRELATION WITH ECOTOXICOLOGICAL, STABILITY AND PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS DURING PASSIVE COMPOSTING OF POULTRY MANURE. *WASTE MANAGE.*, 54, 101-109.

ZUCCONI, F., PERA, A., FORTE, M. & DE BERTOLDI, M. 1981. EVALUATING TOXICITY OF IMMATURE COMPOST. *BIOCYCLE*, 22, 54-57.



RESIDUOS LÍQUIDOS Y EFLUENTES



E-1 ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

1. INTRODUCCIÓN

Los efluentes líquidos provenientes de las producciones agropecuarias y agroindustriales son susceptibles a cambios químicos y microbiológicos si no se realiza un acondicionamiento adecuado. Desde el momento de la recolección de la muestra hasta su análisis definitivo en el laboratorio se debe procurar mantenerla en condiciones de refrigeración y oscuridad.

El objetivo del acondicionamiento de una muestra líquida es obtener una muestra representativa y preservada de factores ambientales que pudieran alterar su composición química y microbiológica.

La cantidad de métodos comprendidos en este compendio requiere un volumen de, al menos, 1 litro de muestra.

2. INSTRUMENTAL

- 2.1. **Anteojos de seguridad.**
- 2.2. **Guantes descartables.**
- 2.3. **Barbijo o máscara de protección respiratoria de gases.**
- 2.4. **Frascos de 250 mL.**

3. PROCEDIMIENTO

- 3.1. **Proceder al fraccionamiento de la muestra utilizando 3 frascos de 250 mL, rotulados adecuadamente.**
- 3.2. **Mezclar la muestra para homogenizar y trasvasar una alícuota en los tres frascos, comenzando por el frasco número 1 (Figura 10).**

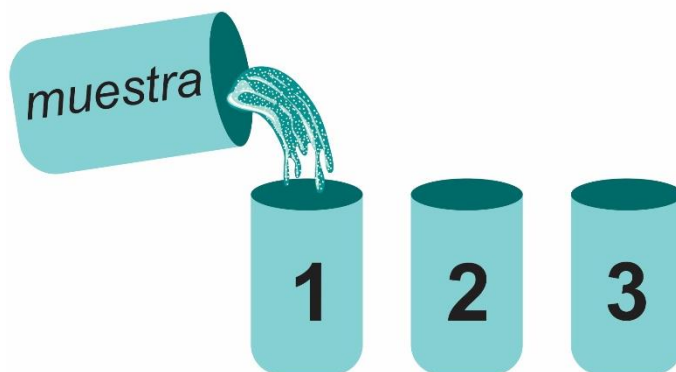


Figura 10. Primer fraccionamiento de la muestra desde el recipiente 1 al 3.

- 3.3. **Mezclar nuevamente la muestra y repetir el procedimiento anterior comenzando por el frasco número 3 y finalizando por el número 1 (Figura 11).**



Figura 11. Posterior fraccionamiento de la muestra desde el recipiente 3 al 1.

- 3.4. **Repetir 3.2 y 3.3 hasta completar el volumen del frasco.**

- 3.5. **Colocar en heladera hasta su análisis.**

A continuación, se detallan el orden prioritario y el tiempo máximo recomendado u obligado, según la *Environmental Protection Agency* (EPA) para cada análisis.

Tabla 4. Condiciones de conservación y mantenimiento de la muestra para cada método incluido en este compendio.

| Determinación | Envase | Conservación | Tiempo Máximo / Obligado |
|-----------------------------|--|---|--------------------------|
| pH | Vidrio / Plástico | Analizar inmediatamente | 2 h |
| DBO | Vidrio / Plástico | Refrigerar | 6 h / 48 h |
| Fósforo total | Vidrio lavado con 1+1 HNO ₃ | Para fosfato disuelto, filtrar inmediatamente y refrigerar | 48 h |
| Sólidos totales y volátiles | Vidrio / Plástico | Refrigerar | 7 d |
| DQO | Vidrio / Plástico | Analizar lo antes posible, o añadir H ₂ SO ₄ hasta pH<2; refrigerar | 7 d / 28 d |
| Nitrógeno orgánico Kjeldahl | Vidrio / Plástico | Refrigerar, añadir H ₂ SO ₄ hasta pH<2 | 7 d / 28 d |
| Nitrógeno amoniacal | Vidrio / Plástico | Refrigerar, añadir H ₂ SO ₄ hasta pH<2 | 7 d / 28 d |
| Conductividad | Vidrio / Plástico | Refrigerar | 28 d |

4. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* La excesiva manipulación de la muestra puede aumentar las pérdidas por evaporación o volatilización de algunos compuestos de interés. El tiempo de acondicionamiento debe ser corto, rápido y en un ambiente frío.



* No se sugiere realizar este procedimiento si se va a determinar la demanda química de oxígeno o la cantidad de oxígeno, porque el mezclado podría modificar las concentraciones de este compuesto en la muestra.

* En el caso que se vaya a determinar fósforo total o soluble es necesario utilizar frascos de vidrio.

5. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 17ª EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

6. DIAGRAMA DEL PASO A PASO

En el diagrama de la Figura 12 se describe el paso a paso de la manipulación y análisis de efluentes, el cual indica el orden prioritario de las determinaciones, con el fin de evitar una degradación de las muestras y obtener resultados erróneos.

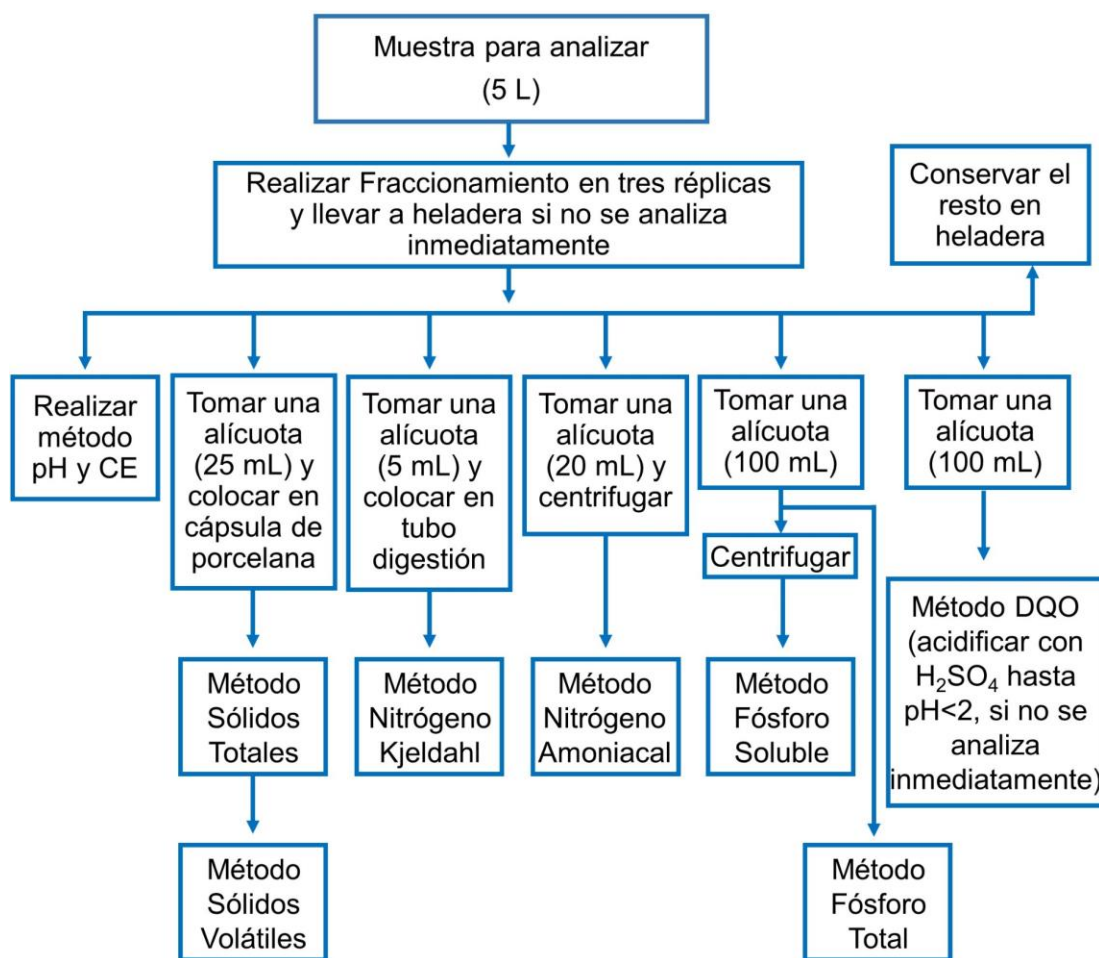


Figura 12. Diagrama del paso a paso para realizar los métodos analíticos en una muestra de efluente.

E-2 SÓLIDOS TOTALES

1. INTRODUCCIÓN

El análisis de sólidos es importante para el control de los procesos biológicos y físicos en el tratamiento de efluentes. Los sólidos totales incluyen los sólidos suspendidos totales, o porción de sólidos totales retenida por un filtro, y los sólidos disueltos totales, o porción que atraviesa el filtro.

2. PRINCIPIO

Los sólidos totales se refieren al residuo que queda en el recipiente después de la evaporación y secado de la muestra en estufa a 105 ± 2 °C. El aumento de masa sobre el recipiente vacío representa los sólidos totales.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Cápsulas de porcelana de 30 o 100 mL.**
- 3.2. **Pipeta de 25 mL.**
- 3.3. **Estufa de secado con circulación de aire a 105 ± 2 °C.**
- 3.4. **Desecador con agente secante activo.**
- 3.5. **Balanza analítica con exactitud de 0,001 g.**

4. REACTIVOS

No se requieren reactivos para este método.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Secar las cápsulas de porcelana en estufa a 105 ± 2 °C por 2 horas y colocar en desecador. Registrar la masa exacta.
- 5.2. Homogeneizar la muestra con agitador magnético.
- 5.3. Agregar 25 mL de efluente en la cápsula de porcelana.
- 5.4. Pesar la cápsula con la muestra. Registrar la masa exacta.
- 5.5. Colocar en estufa a 105 ± 2 °C durante 24 horas o hasta masa constante (Figura 13).
- 5.6. Colocar en desecador y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- 5.7. Pesar la cápsula con muestra seca.

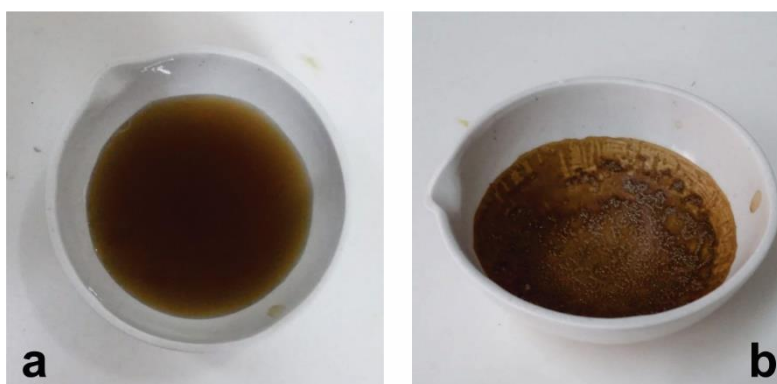


Figura 13. Secado de la muestra, a) muestra líquida previo al secado; b) muestra seca a 105 °C.

6. CÁLCULO

Los sólidos totales (ST) de una muestra pueden ser expresados como porcentaje o como concentración en g/L según:

$$ST(\%) = \frac{(A - B) \times 100}{C - B}$$

$$ST \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{(A - B) \times 1000}{D}$$

Donde:

A= masa de la cápsula + muestra seca a 105 ± 2 °C (g).

B= masa de la cápsula (g).

C= masa de la cápsula + muestra húmeda (g).

D= volumen de muestra (mL).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Conservar la muestra seca para continuar con el análisis de la determinación de sólidos volátiles.

* En caso de que la muestra presente alto contenido de sólidos que no puedan ser tomados mediante la pipeta, se recomienda utilizar un matraz o una probeta de 25 mL, asegurando trasvasar todo el contenido de la muestra.

* Si la balanza utilizada no tiene la precisión sugerida, se recomienda aumentar el volumen de muestra a analizar.

* Las cápsulas de porcelana pueden ser reemplazadas por crisoles o por vaso de precipitado de vidrio en caso de no continuar con la técnica de sólidos volátiles. En algunos laboratorios utilizan recipientes de aluminio.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 2540 A: SÓLIDOS. 2540 B: SÓLIDOS TOTALES SECADOS A $103-105$ °C. 2:78-80. 17° EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

E-3 SÓLIDOS VOLÁTILES

1. INTRODUCCIÓN

La determinación del contenido de sólidos volátiles en el efluente es un parámetro útil para el control y monitoreo de metodologías y tecnologías de tratamiento, porque ofrece una estimación del contenido de materia orgánica. La pérdida de peso por ignición representa los sólidos volátiles. Las determinaciones de sólidos fijos (cenizas) y volátiles no distinguen exactamente entre materia orgánica e inorgánica porque la pérdida de peso por ignición no se limita al material orgánico, sino que influye también pérdida por descomposición o volatilización de algunas sales minerales. Sin embargo, la determinación de sólidos volátiles da una buena aproximación al contenido de materia orgánica presente en la muestra. Para una óptima caracterización de la materia orgánica se recomienda llevar a cabo la determinación de carbono orgánico total (COT), demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO).

2. PRINCIPIO

El material remanente proveniente de la determinación de sólidos totales, secado a 105 ± 2 °C se incinera a 550 ± 50 °C hasta masa constante.

3. INSTRUMENTAL

3.1. Cápsulas de porcelana de 30 o 100 mL.

3.2. Mufla.

3.3. Desecador con agente secante activo.

3.4. Balanza analítica con exactitud 0,001 g.

4. REACTIVOS

No se requieren reactivos para este método.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Colocar la cápsula que contiene la muestra seca a $105 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, proveniente del método E-2 en una mufla.
- 5.2. Calcinar la muestra a $550 \pm 50 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta masa constante. Se sugiere un período de calcinación mínimo de 2 horas para lograr masa constante.
- 5.3. Apagar la mufla y dejar enfriar, hasta que la temperatura permita transferir la cápsula a un desecador. Mantener hasta que la muestra alcance la temperatura ambiente.
- 5.4. Registrar la masa de la cápsula + muestra calcinada (Figura 14).



Figura 14. Calcinación de la muestra, a) muestra secada a $105 \text{ }^\circ\text{C}$; b) muestra calcinada a $550 \text{ }^\circ\text{C}$.

6. CÁLCULO

Los sólidos volátiles (SV) se expresan en porcentaje en base seca (bs) o como concentración en g/L según:

$$SV (\%_{bs}) = \frac{(A - B) \times 100}{A - C}$$

$$SV \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{(A - B) \times 1000}{D}$$

Donde:

A= masa de la cápsula + muestra seca (g).

B= masa de la cápsula + muestra calcinada (g).

C= masa de la cápsula (g).

D= volumen de la muestra inicial (mL).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Verificar los cálculos y la forma de expresión de los resultados para evitar confusión, ya que también pueden encontrarse en base húmeda o masa : masa.



* Las cápsulas de porcelana pueden ser reemplazadas por crisoles.

8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 20 TH EDITION. LENORE, ARNOLD & ANDREW (EDS.).

E-4 pH

1. INTRODUCCIÓN

La medida del pH es una de las determinaciones más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico de efluentes. Prácticamente todas las fases del tratamiento de aguas residuales, como la neutralización ácido-base, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión, dependen del pH.

2. PRINCIPIO

La intensidad del carácter ácido o básico de una suspensión acuosa puede medirse por la actividad del ión hidrógeno (H^+), la cual en suspensiones diluidas puede presumirse equivalente a la concentración molar. La actividad del H^+ puede expresarse bajo la forma $pH = -\log [H^+]$.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. Vasos de precipitado 50 mL
- 3.2. Varilla de vidrio
- 3.3. pH-metro con electrodo de pH

4. REACTIVOS

Los reactivos necesarios son mencionados en el Anexo II (Calibración del pH-metro).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Colocar una alícuota de 25 mL de efluente en el vaso de precipitado.
- 5.2. Calibrar el pH-metro, siguiendo el protocolo descrito en la sección Calibración de equipos (Anexo III).
- 5.3. Colocar el electrodo de pH en la muestra y leer una vez que se estabilice la lectura.
- 5.4. Una vez finalizada la medición, enjuagar el electrodo con abundante agua.

6. EXPRESION DE RESULTADO

Los resultados son adimensionales y se expresan como unidades de pH.

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Para efluentes se recomienda la utilización de sondas de pH con cuerpo epóxico para garantizar la durabilidad, evitando la corrosión.

* Al introducir el electrodo en la muestra, asegurarse que el puente salino quede sumergido en la misma y que el bulbo no toque el fondo del recipiente.

* Es recomendable medir conductividad eléctrica primero y luego pH, ya que al medir pH hay un intercambio de iones que podría afectar levemente la medición de conductividad eléctrica.

* Se recomienda enjuagar con abundante agua destilada el electrodo entre mediciones, para evitar interferencias.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 4500 A. VALOR DE PH. 4: 106-107. 17ª EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

E-5 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

1. INTRODUCCIÓN

La conductividad eléctrica es una medida del contenido de sales en solución. En un efluente, esta variable limita su capacidad de uso agrícola y afecta el funcionamiento de los sistemas de tratamiento biológicos, debido a una posible toxicidad para las bacterias involucradas.

2. PRINCIPIO

La conductividad eléctrica (CE) es una expresión numérica de la capacidad de una solución para transportar una corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la cantidad y calidad de iones, así como de la temperatura durante la medición.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Vaso de precipitado de 50 mL.**
- 3.2. **Conductímetro.**
- 3.3. **Buzo magnético.**
- 3.4. **Agitador magnético.**

4. REACTIVOS

Los reactivos necesarios son mencionados en el Anexo III (calibración del conductímetro).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Calibrar el conductímetro, siguiendo el protocolo descrito en el Anexo III Calibración del conductímetro.**
- 5.2. **Colocar la muestra en un vaso de precipitado en agitación lenta.**
- 5.3. **Colocar la celda de conductividad en la muestra, y leer una vez que se estabilice la lectura.**
- 5.4. **Una vez finalizada la medición, enjuagar la celda con abundante agua destilada.**

6. EXPRESIÓN DE RESULTADO

Los resultados se expresan como unidades dS/m a 25 °C.

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Es recomendable medir conductividad eléctrica primero y luego pH, ya que al medir pH hay un intercambio de iones que podría afectar levemente la medición de conductividad eléctrica.

* Se recomienda enjuagar con abundante agua destilada el electrodo entre mediciones, para evitar interferencias.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 2510 A: CONDUCTIVIDAD. 2:63:64. 17° EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

E-6 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

1. INTRODUCCIÓN

La demanda química de oxígeno (DQO) es una medida del equivalente de oxígeno necesario para oxidar la carga orgánica de un efluente por un oxidante químico fuerte. Esta variable estima el contenido de materia orgánica en efluentes de origen agropecuario y agroindustrial. La concentración de DQO es utilizada para el dimensionamiento y el control de los procesos de las plantas de tratamiento.

2. PRINCIPIO

Una alícuota del efluente es digerida con ácido sulfúrico y dicromato de potasio. En esta reacción, el cromo pasa del estado hexavalente (VI) a trivalente (III) y es catalizada por sulfato de plata (Ag_2SO_4). Para eliminar problemas de interferencias de haluros presentes en la muestra se utiliza sulfato de mercurio (HgSO_4).

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Bloque de digestión que alcance temperaturas de 150 °C.**
- 3.2. **Tubo de digestión.**
- 3.3. **Pipetas de volumen variable (1000 μL y 5000 μL).**
- 3.4. **Matraces de vidrio 25, 50 o 100 mL.**
- 3.5. **Vaso de precipitado de vidrio 50 mL.**
- 3.6. **Espectrofotómetro en el rango visible.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Dicromato de potasio p.a. ($K_2Cr_2O_7$).**
- 4.2. **Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).**
- 4.3. **Sulfato de plata p.a. (Ag_2SO_4).**
- 4.4. **Sulfato de mercurio en cristales o en polvo p.a. ($HgSO_4$).**
- 4.5. **Ftalato ácido de potasio p.a. ($HOOC C_6H_4 COOK$).**
- 4.6. **Solución de dicromato de potasio 0,0347 M. Añadir 10,216 g de dicromato de potasio previamente secado a 105 °C durante 2 horas, a 500 mL de agua destilada. Agregar 167 mL de ácido sulfúrico cc. y 33,3 g de sulfato de mercurio. Disolver y dejar enfriar. Enrasar a 1000 mL.**
- 4.7. **Solución de ácido sulfúrico-sulfato de plata. Añadir 5,5 g de sulfato de plata por cada Kg de ácido sulfúrico. Dejar reposar 1 o 2 días para disolver el sulfato de plata. Considerando la densidad del ácido sulfúrico de 1,84 g/L, se deberán añadir 5,06 g de sulfato de plata en 500 mL de ácido sulfúrico.**
- 4.8. **Solución de ftalato ácido de potasio 1000 mg O_2 /L. Disolver 850 mg ftalato ácido de potasio, previamente porfirizado y seco a 120 °C por dos horas, en 250 mL agua destilada. Trasvasar a un matraz de 1000 mL y enrasar. Esta solución es estable hasta 3 meses cuando se congela (-4 °C) en ausencia de crecimiento biológico visible.**

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Pipetear el volumen seleccionado de la muestra según las dimensiones del tubo de digestión y colocarla en el mismo. En la Tabla 5 se muestra el volumen de muestras y reactivos según las dimensiones del tubo.**

Tabla 5. Volumen de muestra de efluente y requerimientos de solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico, de acuerdo al volumen del tubo de digestión disponible.

| Tubo de digestión | Muestra (mL) | K ₂ Cr ₂ O ₇ (mL) | H ₂ SO ₄ (mL) |
|-------------------|--------------|--|-------------------------------------|
| 16 x 100 mm | 2,5 | 1,5 | 3,5 |
| 20 x 150 mm | 5,0 | 3,0 | 7,0 |
| 25 x 150 mm | 10,0 | 6,0 | 14,0 |
| 9,5 x 100 mm | 1,0 | 0,6 | 1,4 |

- 5.2. Añadir la solución de dicromato de potasio, según los valores detallados en la Tabla 5 (Figura 15a).
- 5.3. Agregar la solución de ácido sulfúrico lentamente y sobre las paredes del recipiente, mezclando suavemente.
- 5.4. Paralelamente preparar una escala de patrones a partir de la solución ftalato ácido de potasio 1000 mg O₂/L de 0, 50, 150, 300, 600, mg O₂/L.
- 5.5. Cerrar los tubos herméticamente y mezclar varias veces con movimientos invertidos.
- 5.6. Colocar los tubos en el digestor a 150 °C durante 2 horas. Dejar enfriar (Figura 15b).
- 5.7. Leer la absorbancia a 600 nm de la escala de patrones y las muestras.

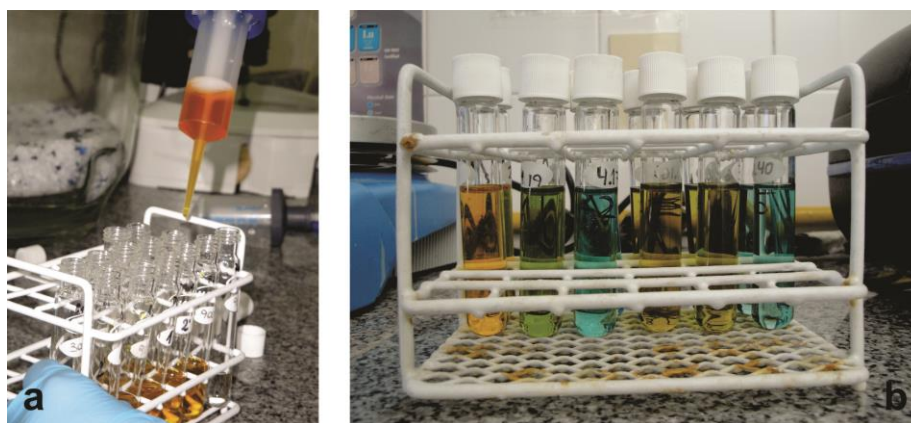


Figura 15. Preparación de la muestra para la digestión, a) agregado de reactivo a los tubos de digestión; b) muestras digeridas.

6. CÁLCULO

Graficar una curva de calibración con las concentraciones (O_2/L) de la escala de patrones en el eje de las abscisas (eje x) y las absorbancias en el eje de las ordenadas (eje y). Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,99.

La demanda química de oxígeno (DQO) se calcula con la absorbancia de la muestra a partir de la ecuación de regresión obtenida.

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS



- * En el caso de que la muestra presente un alto contenido de materia orgánica se sugiere realizar diluciones. Por ejemplo, en efluentes porcinos generalmente se utilizan diluciones superiores a 1:100.
- * El material de vidrio debe estar libre de materia orgánica por lo que se recomienda lavarlo con solución de H_2SO_4 al 20 %.
- * En el caso de que las muestras no contengan compuestos haluros podría evitarse el agregado de sulfato de mercurio.
- * Para obtener una muestra homogénea, cuando el efluente posee alto contenido de sólidos, se recomienda tomar la alícuota mientras la misma se encuentra en agitación.
- * Existen en el mercado *kits* para la determinación de DQO que acortan los tiempos de desarrollo de la técnica. Son tubos de vidrio *Pirex*, aptos para ser utilizados en el termoreactor, que contienen los reactivos necesarios. En este caso, seguir las instrucciones del fabricante y realizar una curva de DQO con estos *kits* para poder realizar luego los cálculos correspondientes.
- * Éste método puede aplicarse para efluentes con contenidos menores a 2000 mg/L de Cl⁻. Existen otras metodologías que permiten la determinación de la DQO en muestras con alto contenido de sales.
- * Como bloque de digestión puede utilizarse el digestor Kjeldahl.

8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 5220 D. REQUERIMIENTO QUÍMICO DE OXÍGENO. 5:12-22. 17° EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

E-7 NITRÓGENO KJELDAHL

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno presente en el medio acuático puede existir en cuatro formas: nitrógeno orgánico, nitrógeno amoniacal, compuestos en forma de nitritos y compuestos en forma de nitratos. En aguas residuales sin tratar, están presentes principalmente el nitrógeno orgánico y el amoniacal, siendo este último el producto de la descomposición bacteriana. El nitrógeno orgánico incluye productos naturales, como las proteínas y péptidos, ácidos nucleicos, urea y materiales orgánicos sintéticos.

Analíticamente el nitrógeno orgánico y el amoniacal se pueden determinar juntos mediante el método de nitrógeno Kjeldahl.

2. PRINCIPIO

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de catalizadores, formándose sulfato de amonio. El producto de esta digestión se destila en exceso de hidróxido de sodio, desprendiendo amoníaco. El amoníaco se destila por arrastre de vapor y se recoge en una solución de ácido bórico que posteriormente se titula con una solución de ácido sulfúrico valorada.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Balanza analítica con exactitud 0,001g.**
- 3.2. **Pipeta de 10 mL.**
- 3.3. **Bloque metálico para digestión de tubos de 42 mm de diámetro.**
- 3.4. **Destilador por arrastre de vapor.**
- 3.5. **Tubos de digestión y destilación de 250 mL y 42 mm de diámetro.**
- 3.6. **Erlemeyer de 100 mL.**
- 3.7. **Microbureta de 10 mL con graduaciones a intervalos de 0,01 mL o titulador automático.**

4. REACTIVOS

- 4.1. Acetanilida p.a. 99,9 % m/m.
- 4.2. Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).
- 4.3. Sulfato de potasio p.a. ($\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- 4.4. Sulfato de cobre p.a. (CuSO_4).
- 4.5. Hidróxido de sodio p.a. (NaOH).
- 4.6. Verde de bromocresol p.a.
- 4.7. Rojo de metilo p.a.
- 4.8. Ácido bórico p.a. (H_3BO_3).
- 4.9. Etanol cc. (96 %).
- 4.10. Mezcla catalítica. Mezclar 94 g de sulfato de potasio, y 6 g de sulfato de cobre. Porfirizar y homogeneizar.
- 4.11. Solución de hidróxido de sodio 40 %. Disolver 400 g de NaOH en un vaso de precipitado de 1000 mL que contenga 600 mL de agua destilada. Dejar enfriar y completar el volumen a 1000 mL.
- 4.12. Solución indicadora. Disolver 0,1 g de verde de bromocresol y 0,07 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol 96 %. El punto final de la reacción es del color verde al gris neutro.
- 4.13. Solución de ácido bórico con indicador. Disolver 20 g de ácido bórico en 800 mL de agua destilada precalentada a 60 °C. Dejar enfriar, trasvasar y aforar a un matraz de 1000 mL que contiene 20 mL de solución indicadora. La solución debe presentar una coloración púrpura rojiza y se ajusta el pH de la solución a 4,5 a 5,0 con una solución de hidróxido de sodio. Mezclar hasta lograr disolución total. Esta solución es estable por 30 días.
- 4.14. Solución de ácido sulfúrico 1 mol/L. Diluir 28 mL de ácido sulfúrico cc. en 500 mL de agua destilada.
- 4.15. Solución de ácido sulfúrico 0,1 mol/L. Diluir 100 mL de solución de ácido sulfúrico 1 mol/L en 1000 mL de agua destilada. Valorar mediante procedimiento de valoración de soluciones ácido y base (Anexo V).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Tomar 5 mL de la muestra, previamente homogenizada, y colocar en el tubo de digestión.
- 5.2. Colocar 0,02 g de acetanilida en otro tubo, para emplearlo como patrón.
- 5.3. Disponer otro tubo vacío para el blanco.
- 5.4. Agregar 1,5 g aproximadamente de mezcla catalítica en cada tubo.
- 5.5. Agregar 10 mL de ácido sulfúrico en cada tubo.
- 5.6. Digerir a 400 °C hasta observar que la muestra esté de color verde claro (Figura 16). La digestión puede tardar entre 30 a 45 min. Dejar enfriar.
- 5.7. Agregar lentamente 20 mL de agua destilada.
- 5.8. Por cada tubo, agregar 20 mL de solución de ácido bórico con indicador en un erlenmeyer y colocarlo bajo el destilador, de manera que el extremo del condensador quede sumergido en esta solución.
- 5.9. Conectar el tubo de digestión en el destilador.
- 5.10. Agregar 20 mL de solución de hidróxido de sodio 40 % al tubo de digestión y destilar. Verificar que el destilado salga a temperatura ambiente.
- 5.11. Destilar hasta un volumen de 100 mL (Figura 6).
- 5.12. Titular el destilado con solución ácido sulfúrico 0,1mol/L hasta el viraje de color verde a rosa - gris neutro. Alternativamente, puede usarse un titulador automático fijando el punto final a pH 4,60.



Figura 16. Digestión de las muestras a 400 °C.

6. CÁLCULO

Se calcula el nitrógeno Kjeldahl (N_K) en g/L según:

$$N_K \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{(A - B) \times C \times 28}{D}$$

Donde:

A= volumen titulado de la muestra (mL).

B= volumen titulado del blanco (mL).

C= concentración de la solución titulante de ácido sulfúrico (mol/L).

D= volumen de muestra (mL).

28= factor de corrección (ver detalle en Anexo VI).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* El contenido de nitrógeno puede ser variable dependiendo del origen del efluente. En particular, los efluentes de tambo contienen baja concentración de nitrógeno y los efluentes porcinos alta concentración del mismo, por lo que queda a criterio del analista el volumen a digerir o variar la concentración de la solución de ácido sulfúrico para su titulación.

* En la digestión, en los puntos 5.2 y 5.3, en vez de agregar ácido sulfúrico cc. y mezcla catalítica, se puede agregar 10 mL de una solución reactiva de digestión. Esta solución se prepara con 134 g sulfato de potasio, 7,3 g sulfato de cobre y 134 mL de ácido sulfúrico y llevando a 1000 mL con agua destilada.

* En el manual de algunos equipos destiladores, indican utilizar 20 mL de solución de ácido bórico por lo que cada analista deberá adaptar este método a partir de lo que indique el manual de su equipo. En la etapa de destilación, se deberá destilar hasta 100 mL y usar un erlenmeyer de mayor capacidad.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 4500-NORG C. NITRÓGENO ORGÁNICO MÉTODO SEMI-MICRO-KJELDAHL. 5:12-22. 17ª EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

E-8 NITRÓGENO AMONICAL

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno amoniacal se produce en gran parte por la desaminación de los compuestos orgánicos nitrogenados y por hidrólisis de la urea. La determinación del amoniaco es importante fundamentalmente cuando el efluente es tratado por procesos biológicos, donde concentraciones altas de este compuesto pueden causar toxicidad. Por otro lado, el contenido de nitrógeno amoniacal es comúnmente utilizado para estimar el contenido de nitrógeno disponible para su valorización agronómica. La diferencia entre el nitrógeno total y el nitrógeno amoniacal puede ser utilizada para estimar el contenido de nitrógeno orgánico en efluentes.

2. PRINCIPIO

El amoniaco se destila por arrastre de vapor en exceso de hidróxido de sodio y se recoge en una solución de ácido bórico que posteriormente se titula con una solución de ácido sulfúrico valorada.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos específicos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Pipeta de 10 mL.**
- 3.2. **Destilador por arrastre de vapor.**
- 3.3. **Tubos de destilación de 250 mL y 42 mm de diámetro.**
- 3.4. **Erlemeyer de 100 mL.**
- 3.5. **Microbureta de 10 mL con graduaciones a intervalos de 0,01 mL o titulador automático.**
- 3.6. **Centrífuga.**

4. REACTIVOS

- 4.1. Hidróxido de sodio p.a. (NaOH).
- 4.2. Verde de bromocresol p.a.
- 4.3. Rojo de metilo p.a.
- 4.4. Ácido bórico p.a. (H₃BO₃).
- 4.5. Etanol cc. (96 %).
- 4.6. Mezcla catalítica. Mezclar 94 g de sulfato de potasio, y 6 g de sulfato de cobre. Porfirizar y homogeneizar.
- 4.7. Solución de hidróxido de sodio 40 %. Disolver 400 g de NaOH en un vaso de precipitado de 1000 mL que contenga 600 mL de agua destilada. Dejar enfriar y completar el volumen a 1000 mL.
- 4.8. Solución indicadora. Disolver 0,1 g de verde de bromocresol y 0,07 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol 96 %. El punto final de la reacción es del color verde al gris neutro.
- 4.9. Solución de ácido bórico con indicador. Disolver 20 g de ácido bórico en 800 mL de agua destilada precalentada a 60 °C. Dejar enfriar, trasvasar y aforar a un matraz de 1000 mL que contiene 20 mL de solución indicadora. La solución debe presentar una coloración púrpura rojiza y se ajusta el pH de la solución a 4,5 a 5,0 con una solución de hidróxido de sodio. Mezclar hasta lograr disolución total. Esta solución es estable por 30 días.
- 4.10. Solución de ácido sulfúrico 1 mol/L. Diluir 28 mL de ácido sulfúrico cc. en 500 mL de agua destilada.
- 4.11. Solución de ácido sulfúrico 0,1 mol/L. Diluir 100 mL de solución de ácido sulfúrico 1 mol/L en 1000 mL de agua destilada. Valorar mediante procedimiento de valoración de soluciones ácido y base (Anexo V).

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Centrifugar una alícuota de la muestra a 10000 rpm por 15 minutos.
- 5.2. Colocar 10 mL de la muestra sobrenadante en el tubo de destilación.

- 5.3. Agregar 10 mL de solución de ácido bórico-indicador en un erlenmeyer y colocarlo bajo el destilador, de manera que el extremo del condensador quede sumergido en esta solución.
- 5.4. Agregar 10 mL de solución de hidróxido de sodio 40 % al tubo de destilación.
- 5.5. Conectar el tubo inmediatamente al destilador.
- 5.6. Destilar hasta un volumen de 50 mL.
- 5.7. Titular el destilado con solución de ácido sulfúrico 0,1 mol/L hasta el viraje de color verde a rosa - gris neutro. Alternativamente, puede usarse un titulador automático fijando el punto final a pH 4,60.

6. CÁLCULO

Se calcula el nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en mg/L según:

$$N - NH_3 \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B) \times C \times 28000}{D}$$

Donde:

A= volumen titulado en la muestra (mL).

B= volumen titulado del blanco (mL).

C= concentración de la solución titulante de ácido sulfúrico (mol/L).

D= volumen inicial de la muestra (mL).

28000= factor de corrección (ver detalle en Anexo VI).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* La centrifugación de la muestra puede reemplazarse por el proceso de filtrado, utilizando papel de filtro cualitativo.

* En el manual de algunos equipos destiladores, indican utilizar 20 mL de solución de ácido bórico por lo que cada analista deberá adaptar este método a partir de lo que indique el manual de su equipo. En la etapa de destilación, se deberá destilar hasta 100 mL y usar un erlenmeyer de mayor capacidad.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 4500-NH3 E. MÉTODO TITULOMÉTRICO. 4:137-140. 17ª EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

E-9 FÓSFORO TOTAL

1. INTRODUCCIÓN

Los efluentes de origen agropecuarios y agroindustrial pueden presentar un alto contenido de fósforo convirtiéndose en un riesgo de eutrofización cuando son vertidos en aguas superficiales. Altos contenidos de este elemento pueden causar la pérdida de la calidad del agua requiriendo aumentos en el costo de purificación y la conservación de los cuerpos superficiales provocando pérdida de las poblaciones naturales del ecosistema. Por otro lado, en plantas de tratamiento biológicos, conocer su concentración es importante, para evitar déficit o exceso de este nutriente que podrían afectar los procesos metabólicos microbiológicos.

En este compendio se describen dos métodos de digestión (Parte A) y de colorimetría (Parte B) para la determinación de fósforo total. El método colorimétrico del ácido ascórbico y solución de molibdato de amonio (B1) es adecuado para concentraciones bajas de fósforo, en un rango de 0,01 a 6 mg/L. Para concentraciones mayores se puede diluir la solución digerida u optar por el método de ácido vanadomolibdofosfórico (B2). El método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico es adecuado para concentraciones más altas de fósforo, entre 1 a 20 mg/L.

PARTE A: DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

A1. DIGESTIÓN POR CALCINACIÓN

2. PRINCIPIO

Una porción de la muestra se calcina a 550 °C y se digiere en ácido sobre una placa calefactora para transformar el compuesto fosforado orgánico a ortofosfato soluble.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Probeta de 10 o 25 mL.**
- 3.2. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**
- 3.3. **Crisol 30 a 40 mL con tapa.**
- 3.4. **Placa calefactora.**
- 3.5. **Matraz de 50 mL.**
- 3.6. **Papel de filtro Whatman N.º 42 o equivalente, y libre de fósforo.**
- 3.7. **Embudo de plástico o vidrio.**
- 3.8. **Mufla.**
- 3.9. **Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Ácido nítrico cc. (HNO_3).**
- 4.2. **Ácido clorhídrico cc. (HCl).**
- 4.3. **Solución de ácido nítrico 1 + 1. Colocar 250 mL de agua destilada y agregar 250 mL de ácido nítrico cc.**
- 4.4. **Solución de ácido clorhídrico 1 + 1. Colocar 250 mL de agua destilada y agregar 250 mL de ácido clorhídrico cc.**

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Pipetear 1 a 10 mL de muestra, de tal manera que el volumen no supere 0,5 g de materia orgánica.**
- 5.2. **Colocar en mufla a 550 ± 50 °C por 4 horas. Dejar enfriar.**
- 5.3. **Agregar 4 mL de solución de ácido nítrico 1 + 1.**
- 5.4. **Evaporar el exceso de solución de ácido nítrico con placa calefactora a 120 °C.**
- 5.5. **Volver a colocar en mufla a 550 ± 50 °C por 1 hora. Dejar enfriar.**
- 5.6. **Agregar 10 mL de solución de ácido clorhídrico 1 + 1 al crisol.**

- 5.7. **Trasvasar a un matraz de 50 mL a través de un embudo con papel de filtro y enjuagar el crisol dos veces con agua destilada.**
- 5.8. **Enrasar con agua destilada.**

A2. DIGESTIÓN POR MICROONDAS

2. PRINCIPIO

Una porción de la muestra se digiere en ácido mediante calentamiento por microondas para transformar el compuesto fosforado orgánico a ortofosfato soluble.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos específicos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.**
- 3.2. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**
- 3.3. **Matraz 50 mL.**
- 3.4. **Papel de filtro Whatman N.º 41 o equivalente.**
- 3.5. **Embudo de plástico o vidrio.**
- 3.6. **Recipiente de 50 mL vidrio.**
- 3.7. **Digestor por microondas y sus accesorios.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$).**
- 4.2. **Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).**

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pipetear 1 a 10 mL de la muestra y colocar en un matraz de 50 mL. Enrasar con agua destilada. El volumen de muestra no debe superar los 0,5 g de materia orgánica.
- 5.2. Trasvasar el volumen total de la muestra al tubo de digestión.
- 5.3. Añadir 0,5 g de persulfato de potasio al tubo.
- 5.4. Añadir 1 mL de ácido sulfúrico concentrado al 98 % al tubo.
- 5.5. Digerir la muestra por un período de 30 minutos a 170 °C. Deberá consultarse con el proveedor del equipo de microondas, los tiempos y volúmenes recomendados de rampa de temperatura y presión interna dentro de los tubos de digestión para asegurar una digestión completa de la muestra (Figura 17).
- 5.6. Dejar enfriar.
- 5.7. Trasvasar a un recipiente de vidrio a través de un embudo con papel de filtro.
- 5.8. Conservar en heladera a 4 °C hasta su determinación.



Figura 17. Digestión de las muestras en el equipo de microondas, a) tubos en el equipo; b) tubos, luego de la digestión.

6. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS



- * Para tomar una alícuota homogénea, se recomienda que la misma se encuentre en agitación en el momento del muestreo.
- * En el caso de la digestión por calcinación, el volumen de muestra no debe proyectarse durante la etapa de calcinación, por lo que se recomienda que no supere 0,5 g de materia orgánica. En este aspecto, se sugiere que antes de colocar en la mufla se seque en estufa a 105 °C o placa calefactora.
- * Cada equipo de digestión microondas requiere de un instructivo de uso propio de cada laboratorio y proveedor. Para la realización de este método por digestión por microondas se requiere de tubos compuestos por materiales que sean resistentes a microondas y permitan contener ácidos. El volumen interno de los tubos no debe ser inferior a 45 mL, soportar presiones de al menos 30 atm (435 psi) y capaz de aliviar la presión interna. Estas especificaciones son necesarias para asegurar que ocurra la reacción apropiada, la durabilidad y la seguridad en los tubos.
- * La determinación de fósforo requiere que el material se encuentre limpio y libre de interferencias por lo que es muy importante realizar la limpieza según anexo I.

7. BIBLIOGRAFÍA

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 2007. SW-846 EPA METHOD 3015A: MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF AQUEOUS SAMPLE AND EXTRACTS. TEST METHODS FOR EVALUATING SOLID WASTE: PHYSICAL/CHEMICAL METHODS. WASHINGTON, DC.

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

PARTE B. DETERMINACIÓN COLORIMÉTRICA

B1. MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

2. PRINCIPIO

El molibdato de amonio y el tartrato de antimonio potásico reaccionan en medio ácido con el ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico que se reduce a azul de molibdeno de color intenso por el ácido ascórbico. El color es estable por varias horas.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Matraz de 50 mL.**
- 3.2. **Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.**
- 3.3. **Espectrofotómetro en el rango visible.**

4. REACTIVOS

- 4.1. **Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).**
- 4.2. **Fosfato diácido de potasio anhidro p.a. (KH_2PO_4).**
- 4.3. **Tartrato de antimonio-potasio hemihidratado p.a. ($K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 H_2O$).**
- 4.4. **Molibdato de amonio tetrahidratado p.a. ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$).**
- 4.5. **Ácido ascórbico p.a.**
- 4.6. **Solución patrón de fósforo (P) 50 mg/L. Disolver 220 mg de fosfato diácido de potasio anhidro en agua destilada y diluir a 1000 mL.**
- 4.7. **Solución de P 2,5 mg/L. Diluir 50 mL de solución de P 50 mg/L y llevar a 1000 mL con agua destilada.**

- 4.8. **Ácido sulfúrico 5 N.** Colocar 200 mL de agua destilada en matraz aforado de 500 mL y adicionarle lentamente 70 mL de ácido sulfúrico cc. Homogeneizar y enfriar.
- 4.9. **Solución de tartrato de antimonio-potasio hemihidratado.** Disolver 1,37 g de tartrato de antimonio potasio hemihidratado con 400 mL de agua destilada en un vaso de precipitado. Si no se disuelve usar un agitador magnético. Trasvasar cuantitativamente a matraz aforado y llevar a 500 mL. Conservar la solución en frasco de vidrio con tapa esmerilada y guardar en heladera.
- 4.10. **Solución de molibdato de amonio al 4 %.** Disolver 20 g de molibdato de amonio tetrahidratado en 500 mL de agua destilada. Conservar en frasco de vidrio con tapa esmerilada y guardar en heladera.
- 4.11. **Solución de ácido ascórbico 0,01 M.** Disolver 1,76 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua destilada. Conservar en heladera, siendo estable por una semana.
- 4.12. **Reactivo combinado.** Agregar 50 mL de solución de sulfúrico 5 N, 5 mL de solución de tartrato de antimonio-potasio hemihidratado, 15 mL de solución de molibdato de amonio y 30 mL de solución de ácido ascórbico 0,01 M. Esta solución tiene un volumen de 100 mL y se prepara en el momento de la determinación.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pipetear 1 a 5 mL de la muestra digerida dependiendo de la concentración estimada de fósforo y colocar en un matraz de 50 mL.
- 5.2. Preparar una escala de patrones en matraces de 50 mL según:

Tabla 6. Volumen de la solución patrón (2,5 mg de P/L) para cada concentración de la escala de patrones.

| Concentración (mg P/L) | Solución patrón (mL) |
|------------------------|----------------------|
| 0 | 0 |
| 0,1 | 2 |
| 0,2 | 4 |
| 0,5 | 10 |
| 0,8 | 16 |

- 5.3. **Agregar agua destilada hasta un volumen de 40 mL.**
- 5.4. **Agregar 8 mL de reactivo combinado a todos los matraces.**
- 5.5. **Enrasar con agua destilada.**
- 5.6. **Luego de 30 minutos leer en espectrofotómetro a 880 nm.**

B2. MÉTODO DEL ÁCIDO VANADOMOLIBDOFOSFÓRICO

2. PRINCIPIO

El molibdato de amonio reacciona en medio ácido con el ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico. En presencia de vanadio se forma ácido vanadomolibdofosfórico de coloración amarilla. El color es estable por varios días y la intensidad no es afectada por la temperatura del laboratorio.

3. INSTRUMENTAL

Este método requiere equipos y materiales de laboratorio de uso habitual para la preparación de reactivos y en particular:

- 3.1. **Matraz de 50 mL.**
- 3.2. **Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.**
- 3.3. **Espectrofotómetro en el rango visible.**

4. REACTIVOS

- 4.1. Ácido nítrico cc. (HNO_3).
- 4.2. Molibdato amónico tetra hidratado p.a. ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$).
- 4.3. Fosfato diácido de potasio anhidro p.a. (KH_2PO_4).
- 4.4. Metavanadato de amonio p.a. (NH_4VO_3).
- 4.5. Solución patrón de fósforo (P) 50 mg/L. Disolver 220 mg de fosfato diácido de potasio anhidro (KH_2PO_4) en agua destilada y diluir a 1000 mL.
- 4.6. Reactivo vanadato-molibdato. Solución A: disolver 25 g de molibdato amónico tetra hidratado en 300 mL de agua destilada. Solución B: disolver 1,25 g de metavanadato de amonio en 300 mL de agua destilada caliente. Dejar enfriar y añadir a esta solución 250 mL de ácido nítrico. Dejar enfriar e incorporar la solución A sobre la B. Mezclar y llevar a volumen de 1000 mL.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. Pipetear 1 a 5 mL de la muestra digerida dependiendo de la concentración estimada de fósforo y colocar en un matraz de 50 mL.
- 5.2. Preparar una escala de patrones en matraces de 50 mL según:

Tabla 7: Volumen de la solución patrón (50 mg P/L) para cada concentración de la escala de patrones.

| Concentración (mg P/L) | Solución patrón (mL) |
|------------------------|----------------------|
| 0 | 0,0 |
| 4 | 4 |
| 8 | 8 |
| 12 | 12 |
| 16 | 16 |

- 5.3. Agregar agua destilada hasta un volumen de 35 mL.
- 5.4. Agregar 10 mL de reactivo vanadato-molibdato a todos los matraces.

5.5. Enrasar con agua destilada.

5.6. A partir de los 10 minutos leer en espectrofotómetro, a longitud de onda de 400 a 470 nm dependiendo de la sensibilidad deseada:

Tabla 8: Longitud de onda (nm) para los diferentes rangos de concentración de fósforo.

| Concentración de P (mg/L) | Longitud de onda (nm) |
|---------------------------|-----------------------|
| 1-5 | 400 |
| 2-10 | 420 |
| 4-18 | 470 |

6. CÁLCULO

6.1. Graficar una curva de calibración con las concentraciones de fósforo, en mg/L, de la escala de patrones en el eje de las abscisas (eje x) y las absorbancias en el eje de las ordenadas (eje y). Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,99.

El fósforo total (PT) se expresa en mg/L según:

$$PT \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A \times B \times C}{D \times E}$$

Donde:

A= concentración de fósforo, en mg/L, de la muestra coloreada obtenida a partir de la ecuación de regresión obtenida por la escala de patrones.

B= volumen de la digestión (mL).

C= volumen del matraz utilizado en la colorimetría (50 mL).

D= volumen de muestra (mL).

E= volumen pipeteado del extracto digerido para el método colorimétrico (mL).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Para el método del ácido ascórbico, cuando la muestra filtrada es turbia o coloreada se puede corregir el valor de absorbancia de la muestra mediante la lectura y diferencia de un blanco. En este caso, el blanco contiene la muestra y todos los reactivos excepto el ácido ascórbico y el tartrato de antimonio y potasio.

* Para el método del ácido vanadomolibdofosfórico, cuando la muestra es turbia o coloreada, agitar 50 mL de la muestra con 200 mg de carbón activado en un erlenmeyer durante 5 min. Filtrar luego para eliminar el carbón. Comprobar la presencia de fosfato de cada lote de carbón porque algunos producen blancos muy altos.

* La determinación de fósforo requiere que el material se encuentre limpio y libre de interferencias por lo que es muy importante realizar la limpieza según anexo I.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 4500 A. 17° EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

PETERS, J., COMBS, S., HOSKINS, B., JARMAN, J., KOVAR, J., WATSON, M., WOLF, A. & WOLF, N. 2003. RECOMMENDED METHODS OF MANURE ANALYSIS. UNIVERSITY OF WISCONSIN COOPERATIVE EXTENSION PUBLISHING, MADISON, WI.

E-10 FÓSFORO SOLUBLE

1. INTRODUCCIÓN

Los efluentes de origen agropecuarios y agroindustrial con alto contenido de fósforo constituyen un riesgo de eutrofización. El fósforo soluble es un parámetro muy importante para evaluar el funcionamiento de plantas de tratamiento biológico y evitar efectos indeseables en los procesos metabólicos microbiológicos.

La determinación del fósforo soluble se describe en este compendio mediante dos secciones: una parte A, filtración y acidificación de la muestra, y una parte B, determinación colorimétrica del fósforo soluble. Pueden utilizarse los mismos métodos colorímetros descritos en la técnica de fósforo total.

PARTE A: FILTRACIÓN Y ACIDIFICACIÓN DE LA MUESTRA

2. PRINCIPIO

El fósforo soluble en la muestra filtrada se cuantifica en presencia de reactivos colorimétricos según la concentración de fósforo.

3. INSTRUMENTAL

- 3.1. Filtros de membranas de 0,45 μm .
- 3.2. Equipo de filtración.

4. REACTIVOS

- 4.1. Ácido sulfúrico cc. (H_2SO_4).
- 4.2. Fenolftaleína.
- 4.3. Alcohol etílico cc. (96 %).

- 4.4. **Solución indicadora fenolftaleína al 1 %.** Disolver 1 g de fenolftaleína en 100 mL de alcohol etílico.
- 4.5. **Solución de ácido sulfúrico 5 N.** Diluir 70 mL ácido sulfúrico cc. a 500 mL de agua destilada.

5. PROCEDIMIENTO

- 5.1. **Filtrar la muestra a través de un filtro de membrana de 0,45 μm .**
- 5.2. **Recolectar el filtrado en recipiente de vidrio.**
- 5.3. **Conservar la muestra filtrada en heladera a 4 °C hasta su determinación.**
- 5.4. **Añadir 0,05 mL (1 gota) de indicador de fenolftaleína a la muestra. Si aparece color rosa, añadir solución de ácido sulfúrico 5 N gota a gota, hasta que empiece a desaparecer.**

PARTE B. DETERMINACIÓN COLORIMÉTRICA

El fósforo contenido en la muestra filtrada puede ser determinado por los métodos colorimétricos descritos anteriormente (técnica fósforo total): método del ácido ascórbico y método del ácido vanadomolibdofosfórico.

6. CÁLCULO

- 6.1. **Graficar una curva de calibración con las concentraciones de fósforo, en mg/L, de la escala de patrones en el eje de las abscisas (eje x) y las absorbancias en el eje de las ordenadas (eje y). Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,99.**

El fósforo soluble (PS) se expresa en mg/L según:

$$PS \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A \times B}{C}$$

Donde:

A= concentración de fósforo soluble de la muestra coloreada a partir de la ecuación de regresión obtenida por la escala de patrones (mg/L).

B= volumen del matraz utilizado en la colorimetría (50 mL).

C= volumen pipeteado de la muestra de efluente (mL).

7. SUGERENCIAS Y EXPERIENCIAS

* Para el método del ácido ascórbico, cuando la muestra filtrada es turbia o coloreada se puede corregir el valor de absorbancia de la muestra mediante la lectura y diferencia de un blanco. En este caso, el blanco contiene la muestra y todos los reactivos excepto el ácido ascórbico y el tartrato de antimonio y potasio.

* Para el método del ácido vanadomolibdofosfórico, cuando la muestra es turbia o coloreada, agitar 50 mL de la muestra con 200 mg de carbón activado libre de fósforo en un erlenmeyer durante 5 min. Filtrar luego para eliminar el carbón y pipetear para el desarrollo del color.

* La determinación de fósforo requiere que el material se encuentre limpio y libre de interferencias por lo que es muy importante realizar la limpieza según Anexo I.



8. BIBLIOGRAFÍA

APHA. 1999. MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES. 4500 A. 17° EDICIÓN. DÍAZ DE SANTOS. MADRID, ESPAÑA.

E-11 BIOENSAYO DE FITOTOXICIDAD

1. INTRODUCCIÓN

El uso del bioensayo de fitotoxicidad permite una evaluación integral de la toxicidad de efluentes. La mortalidad de las plántulas o el retraso del crecimiento pueden estar afectados por la presencia de distintos compuestos tóxicos. El contenido de amonio, sales solubles y ácidos orgánicos, en altas concentraciones, inhiben el desarrollo de las raíces y la absorción de nutrientes.

En este compendio se describe un método para determinar fitotoxicidad.

2. PRINCIPIO

Se exponen semillas de una especie seleccionada a un rango de concentraciones del efluente para evaluar la toxicidad sobre la germinación y la elongación radicular durante los primeros días del desarrollo. Este método permite determinar el grado de toxicidad de la muestra, mediante el uso de índices de fitotoxicidad. Esta metodología es aplicable para evaluar los efectos fitotóxicos de los efluentes crudos o los productos obtenidos luego de un proceso de tratamiento (producto digerido de la digestión anaeróbica, entre otros).

Se requiere realizar un control positivo, el cual determina la sensibilidad de las semillas. Para ello, las semillas son expuestas a diferentes diluciones de un tóxico de referencia (Zn), determinándose la concentración inhibitoria al 50 % (CI_{50}) en la curva de concentración-respuesta.

La exposición de las semillas a las diferentes concentraciones del efluente y el control positivo pueden llevarse a cabo en simultáneo.

3. MATERIALES

Este método requiere de los siguientes equipos y materiales de laboratorio:

- 3.1. Pinzas.
- 3.2. Regla o calibre.
- 3.3. Semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) o rabanito (*Raphanus sativus*) libres de tratamiento químico.
- 3.4. Placas de Petri de 90 mm de diámetro.
- 3.5. Pipetas Pasteur.
- 3.6. Papel de germinación de alta calidad Whatman, Munktell o similar.
- 3.7. Pipeta automática de volumen variable o de vidrio graduada de 10 mL.
- 3.8. Matraces de 50 y 250 mL.
- 3.9. Incubadora.

4. REACTIVOS

- 4.1. Cloruro de zinc p.a. (ZnCl_2).
- 4.2. Solución patrón de zinc 1000 mg/L. Disolver 0,52 g de cloruro de zinc (ZnCl_2) en agua destilada hasta un volumen de 250 mL.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Determinación del control positivo y negativo

- 5.1.1. Preparar 5 soluciones de zinc de diferentes concentraciones: 18,75; 37,5; 75; 150 y 300 mg Zn/L. El control negativo contiene sólo agua destilada y representa la concentración de 0 mg Zn/L.
- 5.1.2. Colocar el papel de germinación dentro de una placa de Petri.
- 5.1.3. Agregar 4 mL de agua destilada (control negativo) o de una de las soluciones de Zn (control positivo) sobre el papel.
- 5.1.4. Colocar 15 semillas, tapar las placas de Petri y rotular. Realizar cada concentración por triplicado. Repetir el procedimiento para cada una de las concentraciones de Zn.
- 5.1.5. Colocar las placas en una incubadora a 22 ± 2 °C en oscuridad.

5.1.6. A los 5 días, contar las semillas que hayan germinado y medir el largo de las radículas. Se considera semilla germinada, cuando haya aparición visible de la radícula (≥ 1 mm de longitud).

5.1.7. Determinar la concentración de Zn que inhibe el 50 % de la germinación y elongación radicular (CI_{50}).

5.2. Bioensayo de toxicidad

5.2.1. Preparar al menos 5 diluciones, en porcentaje y volumen a volumen (v/v) del efluente (concentraciones de efluente).

5.2.2. Colocar el papel de germinación dentro de una placa de Petri.

5.2.3. Agregar 4 mL de una concentración de efluente sobre el papel de germinación.

5.2.4. Colocar 15 semillas, tapar las placas de Petri y rotular. Realizar cada concentración por triplicado. Repetir el procedimiento para cada una de las concentraciones del efluente.

5.2.5. Colocar las placas en una incubadora a 22 ± 2 °C en oscuridad.

5.2.6. A los 5 días, contar las semillas que hayan germinado y medir el largo de las radículas.

5.2.7. Calcular el porcentaje de inhibición de la germinación y de elongación radicular, el índice de crecimiento relativo y de germinación para cada concentración de efluente.



Figura 18. Preparación de las placas de Petri con las muestras diluidas.

6. CÁLCULO

6.1. Cálculos para el control positivo y negativo

6.1.1. Determinar el porcentaje de germinación (GE) sólo en el control negativo según:

$$GE (\%) = \frac{A}{B} \times 100$$

Donde:

A= número de semillas germinadas en la placa de Petri.

B= número de semillas colocadas en la placa de Petri.

6.1.2. Determinar el coeficiente de variación de la elongación radicular (CV_{ER}) sólo en el control negativo según:

$$CV_{ER} (\%) = \frac{C}{D} \times 100$$

Donde:

C= desviación estándar de la elongación radicular.

D= promedio de la longitud radicular (mm).

6.1.3. Determinar el porcentaje de inhibición de la germinación (I_{GE}) en cada concentración según:

$$I_{GE} (\%) = \frac{(E - F)}{E} \times 100$$

Donde:

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

F= número de semillas germinadas en cada concentración de Zn.

- 6.1.4. Graficar una curva concentración-respuesta con las concentraciones de zinc, en mg/L, en el eje de las abscisas (eje x) y los porcentajes de inhibición de la germinación en el eje de las ordenadas (eje y).
- 6.1.5. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.
- 6.1.6. Determinar la concentración a la que se inhibe el 50 % de la germinación CI_{50} a partir de la ecuación de regresión.
- 6.1.7. Determinar el porcentaje de inhibición de la elongación radicular (I_{ER}) según:

$$I_{ER}(\%) = \frac{(G - H)}{G} \times 100$$

Donde:

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

H= promedio de la longitud radicular en cada concentración de Zn (mm).

- 6.1.8. Graficar una curva concentración-respuesta con las concentraciones de zinc, en mg/L, en el eje de las abscisas (eje x) y los porcentajes de inhibición de la elongación radicular en el eje de las ordenadas (eje y).
- 6.1.9. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.
- 6.1.10. Determinar la concentración a la que se inhibe el 50 % de la elongación radicular (CI_{50}) a partir de la ecuación de regresión.

Informar los valores de (CI_{50}) estimados para la germinación y la elongación radicular en el control positivo (Zn como tóxico de referencia).

6.2. Cálculos para el bioensayo de toxicidad

- 6.2.1. Determinar el porcentaje de inhibición de la germinación (I_{GE}) y el porcentaje de inhibición de la elongación radicular (I_{ER}) según:

$$I_{GE}(\%) = \frac{(E - I)}{E} \times 100$$

Donde:

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

I= número de semillas germinadas en cada concentración de efluente.

$$I_{ER}(\%) = \frac{(G - J)}{G} \times 100$$

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

J= promedio de la longitud radicular en cada concentración de efluente (mm).

6.2.2. Calcular el índice de crecimiento relativo (ICR) según:

$$ICR = \frac{J}{G}$$

Donde:

J= promedio de la longitud radicular en la concentración de efluente (mm).

G= promedio de la longitud radicular en el control negativo (mm).

Los valores de referencia del ICR son:

Inhibición de la elongación radicular cuando $0 \leq ICR < 0,8$

No existen efectos significativos cuando $0,8 \leq ICR \leq 1,2$

Estimulación de la elongación radicular cuando $ICR > 1,2$

6.2.3. Calcular el índice de germinación (IG) según:

$$IG (\%) = ICR \times \frac{I}{E} \times 100$$

Donde:

ICR= índice de crecimiento relativo.

I= número de semillas germinadas en cada concentración de efluente.

E= número de semillas germinadas en el control negativo.

El valor de referencia es:

Inhibición cuando $IG < 80 \%$

6.2.4. Determinación del grado de toxicidad de la muestra

El grado de toxicidad de la muestra se determina con los índices de fitotoxicidad $RGIC_{0.8}$ (*Relative Growth Index Concentration 0.8*) y $GIC_{80\%}$ (*Germination Index Concentration 80 %*) que corresponden a la concentración del elutriado a la cual el ICR es igual a 0,8 y el IG es igual a 80 %, respectivamente:

$$ICR = 0,8 (RGIC_{0.8})$$

$$IG = 80 \% (GIC_{80 \%})$$

6.2.5. Graficar una curva de concentración-respuesta, mostrando las concentraciones del efluente en el eje de las abscisas (eje x) y los valores de ICR en el eje de las ordenadas (eje y).

6.2.6. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.

6.2.7. Determinar la concentración a la que el ICR es igual que 0,8 a partir de la ecuación de regresión ($RGIC_{0.8}$).

6.2.8. Graficar una curva concentración-respuesta, mostrando las concentraciones del efluente en el eje de las abscisas (eje x) y los valores de IG en el eje de las ordenadas (eje y).

6.2.9. Obtener la ecuación de regresión con un ajuste mayor 0,90.

6.2.10. Determinar la concentración a la que el IG es igual que 80 % a partir de la ecuación de regresión ($GIC_{80 \%}$).

Los valores de referencia de los índices de fitotoxicidad se clasifican según los efectos adversos observados como:

Efectos inhibitorios cuando $RGIC_{0.8}$ y/o $GIC_{80 \%} \leq 100 \%$

Sin efectos inhibitorios cuando $RGIC_{0.8}$ y/o $GIC_{80 \%} > 100 \%$

Los valores de $RGIC_{0.8}$ y $GIC_{80\%}$ cercanos a 100 % indican que la muestra de efluente presenta baja toxicidad mientras que los valores cercanos a 0 % indican alta toxicidad.

Los puntos finales toxicológicos, conocidos como NOEC y LOEC, se determinan a partir de un análisis estadístico, utilizando los valores de los porcentajes de germinación y de elongación radicular de cada placa de Petri. Si se cumplen los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se puede realizar un análisis de la varianza (ANOVA) donde los porcentajes de germinación y de elongación radicular corresponden a la variable dependiente y las concentraciones del efluente a la variable de clasificación. Posteriormente, se selecciona el método de comparación de medias *post hoc* (Ej. Dunnet) para determinar si existen diferencias significativas entre cada una de las concentraciones de efluente y el control negativo. A partir de los porcentajes de germinación y de elongación radicular que resulten diferentes significativamente, se indican:

NOEC (*no observed effect concentration*) = máxima concentración a la que no se observan efectos adversos.

LOEC (*lowest observed effect concentration*) = mínima concentración a la que se observan efectos adversos.

7. ACEPTABILIDAD Y CONTROLES DE CALIDAD DE LA PRUEBA

En el control negativo, el porcentaje de germinación debe ser superior al 90 % y el CV en la elongación radicular debe ser menor al 30 %.

El control positivo también es utilizado como control de calidad del bioensayo de inhibición de la germinación y de la elongación radicular. Por ello, se deben informar los valores de CI_{50} estimados para la germinación y la elongación radicular en el control positivo.

8. SUGERENCIA Y EXPERIENCIA



- * Entre otras especies que se pueden utilizar está el ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) y el berro (*Lepidium sativum* L.).
- * Es muy importante realizar por triplicado cada muestra debido a que se trata de una determinación biológica.
- * Es necesario informar los valores de los puntos finales toxicológicos y de los índices de fitotoxicidad para cada muestra analizada. De esta manera, se deja registro de la sensibilidad de la especie utilizada y del grado de toxicidad de la muestra.
- * En el caso que no se puedan medir todas las placas del ensayo al finalizar los 5 días de incubación, las placas pueden conservarse a -20 °C hasta su medición. En un mismo experimento, se debe aplicar el mismo método de medición para que los resultados sean comparables.
- * El rango de concentraciones de zinc sugerido para realizar el control positivo, se debe a la sensibilidad presentada por las semillas de lechuga y rabanito. Si se cambia de especie de prueba, es posible que se necesite ajustar este rango de concentraciones.
- * Las curvas concentración-respuesta pueden ser ajustadas mediante regresiones lineales o no lineales y con las variables transformadas o no, dependiendo de los datos obtenidos.
- * Las semillas utilizadas pueden presentar fluctuaciones en la viabilidad debido a una mala conservación o antigüedad de las mismas. Por ello, es importante la realización del control positivo e informar los resultados de los controles de calidad.
- * Se recomienda conservar las semillas en un lugar fresco y seco.

9. BIBLIOGRAFÍA

- ALVARENGA, P., PALMA, P., GONCALVES, A.P., FERNANDES, R.M., CUNHA-QUEDA, A.C., DUARTE, E. & VALLINI, G. 2007. EVALUATION OF CHEMICAL AND ECOTOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BIODEGRADABLE ORGANIC RESIDUES FOR APPLICATION TO AGRICULTURAL LAND. ENVIRON. INT., 33, 505-513.
- CARVALHO NEVES, L., BEBER DE SOUZA, J., DE SOUZA VIDAL, C.M., HERBERT, L.T., DE SOUZA, K.V., GERONAZZO MARTINS, K. & YOUNG, B.J. 2020. PHYTOTOXICITY INDICES AND REMOVAL OF COLOR, COD, PHENOLS AND ISA FROM PULP AND PAPER MILL WASTEWATER POST-TREATED BY UV/H₂O₂ AND PHOTO-FENTON. ECOTOX. ENVIRON. SAFE., 202, 110939.

- SOBRERO, C. & RONCO, A.E. 2004. ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON SEMILLAS DE *L. SATIVA*. IN: CASTILLO MORALES, G. (ED.). ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS: ESTANDARIZACIÓN, INTERCALIBRACIÓN, RESULTADOS Y APLICACIONES, MEXICO, PP. 71-79.
- TIQUIA, S.M., TAM, N. & HODGKISS, I. 1996. EFFECTS OF COMPOSTING ON PHYTOTOXICITY OF SPENT PIG-MANURE SAWDUST LITTER. ENVIRON. POLLUT., 93, 249-256.
- USDA, USCC. 2001. TEST METHODS FOR THE EXAMINATION OF COMPOSTING AND COMPOST (TMECC). METHOD 05.05. BIOLOGICAL ASSAYS. EDAPHOS INTERNATIONAL, DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND COMPOSTING COUNCIL, HOUSTON, USA.
- YOUNG, B.J., RIERA, N.I., BEILY, M.E., BRES, P.A., CRESPO, D.C. & RONCO, A.E. 2012. TOXICITY OF THE EFFLUENT FROM AN ANAEROBIC BIOREACTOR TREATING CEREAL RESIDUES ON *LACTUCA SATIVA*. ECOTOXICOL. ENVIRON. SAFE., 76, 182-186.
- YOUNG, B.J., RIZZO, P.F., RIERA, N.I., DELLA TORRE, V., LOPEZ, V.A., MOLINA, C.D., FERNANDEZ, F.E., CRESPO, D.C., BARRENA, R., KOMILIS, D. & SANCHEZ, A. 2016. DEVELOPMENT OF PHYTOTOXICITY INDEXES AND THEIR CORRELATION WITH ECOTOXICOLOGICAL, STABILITY AND PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS DURING PASSIVE COMPOSTING OF POULTRY MANURE. WASTE MANAGE., 54, 101-109.
- ZUCCONI, F., PERA, A., FORTE, M. & DE BERTOLDI, M. 1981. EVALUATING TOXICITY OF IMMATURE COMPOST. BIOCYCLE, 22, 54-57.



INTERLABORATORIO: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



En el marco del Programa Nacional de Recursos Naturales Gestión Ambiental y Ecorregiones, Proyecto específico 1128042 con título “Tecnologías y estrategias de gestión de residuos y efluentes en sistemas agropecuarios y agroindustriales”, se llevaron a cabo cuatro rondas de interlaboratorios consecutivas, durante el período de 2014 a 2018. El objetivo principal de realizar los interlaboratorios fue unificar metodologías para la caracterización de residuos y efluentes, de origen agropecuario y agroindustrial, de acuerdo a adaptaciones y modificaciones de protocolos nacionales e internacionales.

Participaron en estos interlaboratorios:

10 Laboratorios pertenecientes al INTA:

- * Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA)
- * Instituto de Suelos (IS)
- * EEA Mendoza
- * EEA San Juan
- * EEA Hilario Ascasubi
- * EEA Rafaela
- * AER Aimogasta
- * EEA Pergamino
- * EEA Concepción del Uruguay
- * EEA Marcos Juárez

8 Universidades:

- * Universidad Nacional del Comahue - CRUB
- * Universidad Tecnológica Nacional Rafaela
- * Universidad Nacional Santiago del Estero
- * Universidad Nacional de Cuyo
- * Universidad Nacional del Nordeste – Chaco
- * Universidad Nacional de San Martín
- * Universidad Nacional de Chilecito
- * Universidad Nacional de Rosario

2 organismos públicos:

- * INTI Rafaela
- * SENASA

1 laboratorio del ámbito privado:

- * Tecnoagro

Los interlaboratorios permitieron analizar muestras de diferentes matrices y composiciones: cama de caballo, compost proveniente de guano avícola y efluente porcino. El acondicionamiento, fraccionamiento y distribución de cada muestra se llevó a cabo en el Laboratorio de Transformación de Residuos, IMyZA-INTA, siguiendo un protocolo de desarrollo del interlaboratorio que se mantuvo durante los 4 años.

Las muestras fueron inicialmente acondicionadas. La cama de caballo fue secada en una sala aclimatada a 28 °C, y pasada por tamiz de 2000 micrones para separar el material grueso (larvas, paja) y homogenizar la muestra. La cama de caballo y el compost fueron colocados en bandejas para su mezclado y homogenización. Por el método del cuarteo, cada muestra sólida fue fraccionada en bolsas de polietileno con aproximadamente 1 kg de muestra. El efluente porcino fue fraccionado en recipientes de plástico de 500 mL con tapa a rosca. En particular, para la determinación del fósforo, una alícuota de 100 mL fue almacenada en recipiente de vidrio color caramelo. Una vez realizado el fraccionamiento, las alícuotas fueron almacenadas en la heladera a 4 °C hasta su distribución.

Para su distribución a cada laboratorio participante, las alícuotas fueron acondicionadas en cajas de telgopor con refrigerantes para mantener una atmósfera fría y disminuir la actividad microbiana. Cada alícuota fue identificada con un número aleatorio que permitió vincularlo a la secuencia del envasado. A cada laboratorio se le asignó un número de laboratorio.

Una vez recibida la muestra en cada laboratorio, se conservó en heladera a 4 °C hasta el momento de análisis. Se fijó un mismo día de inicio del análisis de las muestras para todos los laboratorios participantes. Además, se recomendó un diagrama de flujo para la determinación de cada técnica dentro del protocolo del interlaboratorio.

Los parámetros incluidos en los interlaboratorios fueron:

En muestras sólidas:

1. Humedad
2. pH
3. Conductividad eléctrica
4. Densidad
5. Carbono orgánico total
6. Nitrógeno total
7. Nitrógeno Kjeldahl
8. Amonio y nitrato
9. Fósforo total
10. Potasio total

En muestra líquida:

1. pH
2. Conductividad eléctrica
3. Sólidos totales
4. Sólidos volátiles
5. Fósforo total
6. Demanda química de oxígeno
7. Nitrógeno Kjeldahl
8. Densidad
9. Nitrógeno amoniacal

El analista debía fraccionar cada muestra en 3 submuestras, realizar los análisis e informar los valores obtenidos de cada submuestra, a modo de poder comparar estadísticamente los valores y la dispersión entre los laboratorios involucrados.

Los resultados fueron analizados estadísticamente por el programa INFOSTAT. Se realizó un análisis ANOVA o Kruskal Wallis según correspondiera, con el respectivo test de Tuckey, para cada variable de cada muestra (sólida y líquida) y por cada laboratorio. Además, se calculó la puntuación z, que informa sobre el grado de desempeño logrado para cada laboratorio y por cada análisis, conforme a:

$|z| \leq 2$ Satisfactorio

$2 < |z| < 3$ Cuestionable

$|z| \geq 3$ No satisfactorio

En todos los interlaboratorios se calculó el desempeño global alcanzado por cada participante y medido con los índices: Sz, SRz y SSz. Los valores individuales de z pueden combinarse para obtener el desempeño global de cada laboratorio participante. Para el cálculo de Sz, SRz y SSz se siguió la misma metodología que en el tercer interlaboratorio:

a) Sz = Suma de todas las puntuaciones z obtenidas. Interpretación: Si todas las puntuaciones son del mismo signo, este índice tendrá mayor valor absoluto indicando un desvío sistemático.

b) SRz = Ídem anterior pero dividido por la raíz cuadrada del número de análisis realizado por el participante. Interpretación: Se interpreta de la misma forma que el valor z y se utiliza la misma escala.

c) SSz = Suma de los valores z elevados al cuadrado. Interpretación: Este índice tiene una distribución Chi-cuadrado (χ^2). Se interpreta utilizando las probabilidades de dicha distribución con intervalos de confianza al nivel de significación de $\alpha = 0,05$ y $\alpha = 0,01$.

d) Puntaje %: La sumatoria de los puntos asignados a las puntuaciones z obtenidas expresada en una escala porcentual. Interpretación: Solamente los resultados iguales o mayores a 70 % se consideran satisfactorios. Los laboratorios que obtienen un puntaje menor a 70 % se consideran no satisfactorios y se recomienda enfáticamente tomar acciones correctivas.

Los puntos asignados son determinados a partir del valor z:

Tabla 9. Puntos asignados a partir del valor z.

| Valor z | Punto asignado |
|------------------|----------------|
| $ z \leq 1$ | 5 |
| $1 < z \leq 2$ | 4 |
| $2 < z \leq 3$ | 2 |
| $ z \geq 3$ | 0 |

1. RESULTADOS

Tabla 10. Valor medio \pm D.E de las variables analizadas en la cama de caballo realizada en los cuatro interlaboratorios del proyecto PNNAT a partir de muestras independientes.

| Parámetro | Unidad | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 |
|------------------------------------|-------------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| pH 1:5 | | 7,8 \pm 0,6 | 8,9 \pm 0,3 | 8,8 \pm 0,2 | 8,5 \pm 0,2 |
| Conductividad eléctrica 1:5 | dS/m | 9,14 \pm 5,16 | 7,31 \pm 5,07 | 7,16 \pm 2,38 | 4,23 \pm 1,2 |
| Densidad aparente | Kg/m³ | 177 \pm 89 | 180 \pm 100 | 234 \pm 187 | 164 \pm 89 |
| Humedad | % | 56,14 \pm 11,88 | 57,93 \pm 1,96 | 56,83 \pm 11,73 | 67,84 \pm 1,39 |
| Carbono orgánico total | %* | 46,84 \pm 17,00 | 46,33 \pm 9,67 | 47,34 \pm 14,00 | 50,62 \pm 0,38 |
| Nitrógeno Kjeldahl | %* | 1,02 \pm 0,23 | 1,61 \pm 0,70 | 1,51 \pm 0,32 | 0,88 \pm 0,15 |
| Nitrógeno de amonio | *mg/Kg | -- | --- | 3104 \pm 1124 | 79,98 \pm 41,97 |
| Nitrógeno de nitrato | *mg/Kg | -- | --- | 768 \pm 1288 | 562 \pm 337 |
| Fósforo total | *mg/g | -- | 2,65 \pm 2,14 | 3,82 \pm 2,64 | 2,10 \pm 0,50 |
| Laboratorios participantes | | 11 | 12 | 19 | 12 |

*Las unidades son expresadas en base seca

Tabla 11. Valor medio \pm D.E de las variables analizadas en la muestra de compost realizada en los cuatro interlaboratorios del proyecto PNNAT a partir de muestras independientes.

| Parámetro | Unidad | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 |
|------------------------------------|--------------------------|------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| pH 1:5 | | 6,9 \pm 0,3 | 8,1 \pm 0,2 | 7,3 \pm 0,2 | 7,0 \pm 0,2 |
| Conductividad eléctrica 1:5 | dS/m | 3,79 \pm 2,88 | 4,75 \pm 1,51 | 1,13 \pm 0,34 | 2,76 \pm 0,84 |
| Densidad aparente | *Kg/m³ | 465 \pm 120 | 560 \pm 160 | 469 \pm 292 | 494 \pm 45 |
| Humedad | % | 38,24 \pm 7,43 | 29,97 \pm 1,95 | 51,70 \pm 10,45 | 17,39 \pm 2,21 |
| Carbono orgánico total | %* | 17,20 \pm 4,13 | 12,50 \pm 4,36 | 18,36 \pm 5,88 | 17,39 \pm 2,21 |
| Nitrógeno Kjeldahl | %* | 1,45 \pm 0,19 | 0,88 \pm 0,35 | 2,03 \pm 2,04 | 1,29 \pm 0,44 |
| Nitrógeno de amonio | *mg/Kg | -- | 562 \pm 446 | 30,8 \pm 46,2 | 88,46 \pm 20,26 |
| Nitrógeno de nitrato | *g/Kg | -- | -- | 1,75 \pm 1,64 | 561,79 \pm 337,83 |
| Fósforo total | *mg/g | -- | 2,02 \pm 1,47 | 18,47 \pm 13,9 | 1,83 \pm 0,83 |
| Laboratorios participantes | | 11 | 12 | 19 | 11 |

*Las unidades son expresadas en base seca

Tabla 12. Valor medio \pm D.E de las variables analizadas en la muestra de efluente porcino (años 2014, 2016 y 2017) y efluente vacuno (año 2015) realizada en los cuatro interlaboratorios del proyecto PNNAT a partir de muestras independientes.

| Variable | Unidad | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 |
|-----------------------------------|-------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| pH | | 7,2 \pm 0,6 | 7,2 \pm 0,4 | 8,0 \pm 0,2 | 7,1 \pm 0,1 |
| Conductividad eléctrica | dS/m | 9,83 \pm 3,51 | 1,51 \pm 0,23 | 8,19 \pm 0,52 | 31,47 \pm 1,78 |
| Sólidos totales | % | 1,56 \pm 0,35 | 0,63 \pm 0,26 | 0,44 \pm 0,03 | 4,43 \pm 0,79 |
| Sólidos volátiles | %* | 53,85 \pm 17,80 | 45,65 \pm 20,75 | 54,73 \pm 7,73 | 65,60 \pm 20 |
| DQO | g/L | 29,34 \pm 5,99 | 6,60 \pm 0,59 | 3,98 \pm 1,19 | 7,46 \pm 1,32 |
| Nitrógeno Kjeldahl | g/L | 2,10 \pm 0,70 | 0,14 \pm 0,06 | 2,21 \pm 3,97 | 8,17 \pm 1,49 |
| Nitrógeno amoniacal | g/L | -- | -- | -- | 5,41 \pm 1,11 |
| Fósforo total | g/L | 0,16 \pm 0,06 | 0,13 \pm 0,09 | 0,90 \pm 0,10 | 1,14 \pm 0,98 |
| Laboratorios participantes | | 6 | 7 | 13 | 6 |

*Las unidades son expresadas en base seca

En el primer interlaboratorio, cada laboratorio utilizó las técnicas que desarrollaban habitualmente. Esto hizo que las comparaciones de los resultados no fueran similares. Las principales diferencias fueron encontradas en: las diluciones para la determinación del pH y de la conductividad eléctrica, las temperaturas para la determinación de humedad y del carbono orgánico total, los factores de conversión de materia orgánica a carbono orgánico total, los pretratamientos (algunos secan y muelen la muestra y otros, no) para la determinación del nitrógeno Kjeldahl. Asimismo, hubo diferencias en la expresión de los resultados, algunos en base seca y otros en base húmeda. Todas estas diferencias encontradas en las metodologías de trabajo se vieron reflejadas en grandes variaciones entre los resultados de los laboratorios para cada variable.

Este primer interlaboratorio nos permitió tomar conciencia sobre nuestras dificultades y limitaciones, principalmente reconocer la importancia y la necesidad de protocolizar técnicas para acordar una misma metodología de trabajo. Por ello, para el segundo interlaboratorio, varios cambios fueron incluidos. Con respecto a la metodología de trabajo, se realizaron varias reuniones técnicas que nos permitieron generar un primer compendio de técnicas consensuadas donde se incluyeron los cálculos y las unidades. En cuanto al desarrollo del interlaboratorio se propusieron: el fraccionamiento en tres submuestras y el informe de cada una de ellas; especificar en la hoja de informe de resultados la expresión en base seca o húmeda para cada variable; un diagrama de flujo, donde se muestra la secuencia de análisis y condiciones de conservación de la muestra para cada variable, considerando los tiempos de su degradación. Como resultado del segundo interlaboratorio, logramos unificar las metodologías de trabajo, viéndose reflejado esto en un menor desvío para varios de los parámetros. Sin embargo, no todos los laboratorios respetaron el protocolo del desarrollo del interlaboratorio, en el cual todos los laboratorios participantes debían realizar las técnicas consensuadas en el primer compendio.

En el tercer interlaboratorio, se logró una mayor participación de laboratorios participantes, pero sin embargo no todos respetaron la metodología de trabajo. Se continuó trabajando en unificar las metodologías, se realizaron algunos ajustes metodológicos sobre todo en aquellas técnicas que mostraron mayores desvíos como nitrógeno Kjeldahl y densidad para muestras sólidas. También se resaltó la necesidad de respetar el diagrama de flujo de análisis de las muestras para evitar la degradación de las muestras y unificar tiempos de análisis entre laboratorios, principalmente en aquellas determinaciones en las que impacta el periodo de almacenamiento de la muestra aún si se conserva en refrigeración a 4 °C. Esto sucede en el caso de la determinación de compuestos nitrogenados y de la materia orgánica (sólidos volátiles en efluentes y materia orgánica en sólidos).

Finalmente, en el cuarto interlaboratorio, se logró obtener un mayor número de participantes con aptitud de desempeño satisfactorio. A pesar de que el número de laboratorios participantes no fue mayor a años anteriores, si hubo un mayor número de laboratorios (y resultados) que fueron incluidos en el análisis estadístico, valores medios y desvíos.

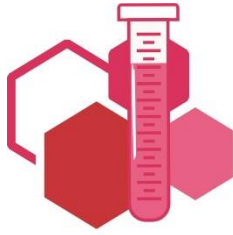
Las variables más homogéneas y fáciles de implementar son aquellas de lectura directa, como pH y CE en efluentes como así también pH, carbono orgánico total y humedad de las muestras sólidas, observando valores de CV menores a 10. Por el contrario, las variables de sólidos totales y volátiles, nitrógeno de amonio y nitrato fueron las más dispersas.

Por otra parte, la unificación de un protocolo consensuado ha favorecido mucho en disminuir diferencias y homologar factores e instrumentos de análisis. La mayoría de los participantes ha manifestado la practicidad de tener un compendio de métodos consensuados, el cual será muy útil para próximos análisis y ensayos sobre residuos y efluentes de origen agropecuario y agroindustrial.

En la siguiente tabla se detallan los indicadores y el puntaje porcentual del desempeño para cada laboratorio participante en el cuarto interlaboratorio (2017).

Tabla 13. Valor Sz, SRz y SSz para cada laboratorio y el puntaje porcentual de desempeño en el cuarto interlaboratorio (2017).

| Nº laboratorio | Nº variables analizadas | Sz | SRz | SSz | Puntaje % |
|----------------|-------------------------|--------|-------|----------|-----------|
| 1 | 12 | 3,81 | 1,10 | 12135,59 | 60 |
| 3 | 27 | 6,87 | 1,32 | 41,3 | 93 |
| 5 | 12 | 0,96 | 0,28 | 6,18 | 97 |
| 8 | 20 | 3,24 | 0,72 | 25,05 | 92 |
| 9 | 5 | 2,91 | 1,30 | 1,93 | 100 |
| 10 | 24 | 2,91 | 0,59 | 19,06 | 93 |
| 11 | 15 | 49,3 | 12,73 | 4416,33 | 67 |
| 12 | 25 | -10,82 | -2,16 | 23,06 | 91 |
| 16 | 28 | 14,45 | 2,73 | 21,36 | 93 |
| 18 | 12 | -3,73 | -1,08 | 14,39 | 92 |
| 22 | 15 | -1,68 | -0,43 | 25,06 | 88 |
| 25 | 19 | 17,55 | 4,03 | 253,11 | 73 |
| 27 | 16 | -5,76 | -1,44 | 8,94 | 96 |



ANEXOS

ANEXO I: HIGIENE Y SEGURIDAD DEL PERSONAL Y LIMPIEZA DEL MATERIAL

Para el desarrollo de todos los métodos analíticos descritos es conveniente seguir las medidas generales de seguridad e higiene:

- * Vestir ropa protectora como guardapolvo.
- * Guantes.
- * Protectores de ojos (anteojos de seguridad) en caso que sea necesario.
- * Conocer sobre la manipulación, uso, almacenamiento y riesgos de los reactivos químicos antes de ser utilizados en cada técnica. Esta información puede encontrarse en las hojas de seguridad de cada reactivo.
- * Higienizar con alcohol al 70 % mesadas e instrumentos utilizados luego de su uso para eliminar la posible presencia de organismos patógenos en efluentes y residuos sólidos.

En la Tabla 14 se describen los principales elementos de protección personal (EPP) y la limpieza de material para cada técnica descrita en este compendio para muestras sólidas y efluentes.

Tabla 14. Elementos de protección personal (EPP) de higiene y seguridad y limpieza del material para cada técnica de sólidos y efluentes.

| Muestra | Método | EPP | Limpieza del material |
|---------------|--|---|--|
| Sólida | pH | <ul style="list-style-type: none"> • Guantes • Barbijo | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. |
| | Conductividad Eléctrica | | |
| | Densidad Aparente | | |
| | Humedad y Materia Seca | <ul style="list-style-type: none"> • Pinza o guante resistente al calor | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. • Las cápsulas o recipientes deben secarse a 105 ± 2 °C durante 1 hora luego de su lavado. • Conservar en desecador hasta su posterior uso. |
| | Materia Orgánica y Carbono Orgánico Total | <ul style="list-style-type: none"> • Pinza o guante resistente a altas temperaturas. <u>Precaución:</u> Retirar las muestras cuando la temperatura de la mufla haya llegado a 180 °C y evitar un cambio térmico brusco. | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. • Las cápsulas deben secarse a 550 °C durante 1 hora luego de su lavado. • Conservar en desecador hasta su posterior uso. |
| | Nitrógeno Total, Kjeldahl, Amonio y Nitrato | <ul style="list-style-type: none"> • Guantes resistentes al calor • Gafas. • <u>Precaución:</u> La aplicación de los ácidos debe realizarse bajo campana con extracción de vapores. Descartar el residuo del lavado en un recipiente para tratamiento de residuos especiales. | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. |
| Fósforo Total | <ul style="list-style-type: none"> • Trabajar bajo campana de extracción de gases. • Descartar el residuo del lavado en un recipiente para tratamiento de residuos especiales. | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material de vidrio con HCl diluido (1:3), y enjuagar con abundante agua destilada. • No usar nunca detergentes comerciales que contengan fosfato. • Se recomienda separar este material y dejarlo exclusivamente para este método. | |

Continúa en la página siguiente

| Muestra | Método | EPP de higiene y seguridad | Limpeza del material |
|----------|--------------------------------|--|--|
| Efluente | pH | | |
| | Conductividad Eléctrica | <ul style="list-style-type: none"> • Guantes • Barbijo | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. |
| | Sólidos Totales | <ul style="list-style-type: none"> • Pinza o guante resistente al calor | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. • Las cápsulas o recipientes deben secarse a 105 ± 2 °C durante 1 hora luego de su lavado. • Conservar en desecador hasta su posterior uso. |
| | Sólidos Volátiles | <ul style="list-style-type: none"> • Pinza o guante resistente a altas temperaturas. <u>Precaución:</u> Retirar las muestras cuando la temperatura de la mufla haya llegado a 180 °C y evitar un cambio térmico brusco. | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. • Las cápsulas deben secarse a 550 ± 50 °C durante 1 hora luego de su lavado. • Conservar en desecador hasta su posterior uso. |
| | Nitrógeno Kjeldahl y Amoniacal | <ul style="list-style-type: none"> • Guantes resistentes al calor • Gafas. • <u>Precaución:</u> La aplicación de los ácidos debe realizarse bajo campana con extracción de vapores. Descartar el residuo del lavado en un recipiente para tratamiento de residuos especiales. | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material con detergente no iónico diluido y enjuagar con abundante agua. • Para eliminar los restos orgánicos, realizar un lavado con solución de HCl 2,5 %. • Realizar siempre un último enjuague con agua destilada. |
| | Fósforo Total y Soluble | <ul style="list-style-type: none"> • Trabajar bajo campana de extracción de gases. • Descartar el residuo del lavado en un recipiente para tratamiento de residuos especiales. | <ul style="list-style-type: none"> • Lavar el material de vidrio con HCl diluido (1:3), y enjuagar con abundante agua destilada. • No usar nunca detergentes comerciales que contengan fosfato. • Se recomienda separar este material y dejarlo exclusivamente para este método. |

ANEXO II: CALIBRACIÓN DEL pH-METRO

1. AJUSTE INTERNO DEL pH-METRO

- * Trasvasar a un vaso de precipitado o vaso descartable una alícuota de la solución reguladora de pH 7.
- * Medir su temperatura y ajustar el pH-metro a la misma.
- * Sumergir el electrodo en la solución y proceder a la calibración del equipo en este punto, según lo indicado en el manual de instrucciones del equipo.
- * Repetir la calibración con la solución reguladora de pH 4, si se espera que el pH de la muestra sea ácido, o bien con solución reguladora de pH 9 o 10, si se espera que el pH de la muestra sea alcalino.
- * Verificar siempre las indicaciones y especificaciones del fabricante del equipo.

2. PRECAUCIONES

Asegurarse que las soluciones reguladoras y la suspensión se encuentren a temperatura ambiente. La lectura puede considerarse estable cuando durante un período de 5 segundos no se producen variaciones.

Enjuagar el electrodo con agua destilada entre determinaciones.

3. BIBLIOGRAFÍA

OSTINELLI, M. & CARREIRA, D. TÉCNICAS ANALÍTICAS DE LOS LABORATORIOS INTEGRANTES DE LA RILSAV. DETERMINACIÓN DE PH EN MUESTRAS DE SUELO. PRIMER ENSAYO DE COMPARACIÓN INTERLABORATORIOS - RILSAV. JULIO DE 2007.

ANEXO III: CALIBRACIÓN DE CONDUCTÍMETRO

1. AJUSTE INTERNO DEL CONDUCTÍMETRO

- * Calibrar el conductímetro usando la solución de cloruro de potasio estándar 0,1 N siguiendo las instrucciones del fabricante.
- * Si el conductímetro no posee compensación de la temperatura, se debe controlar la temperatura de la muestra o solución y compensar el resultado a 25 °C.
- * Las unidades de expresión son $\text{dS/m} = \text{mS/cm} = 1000 \mu\text{S/cm}$ a 25 °C.
- * Enjuagar siempre la sonda con agua destilada entre las mediciones.
- * Verificar siempre las indicaciones y especificaciones del fabricante del equipo.

2. MANTENIMIENTO DE LA SONDA

- * Algunas muestras pueden contener un alto contenido de ácidos orgánicos, los cuales pueden acumularse en el vidrio de la sonda formando una película que disminuyen el flujo de corriente. Ver las instrucciones de fábrica para la limpieza y/o recubrimiento de la sonda.
- * Usar agua desionizada con un mínimo de resistividad de 1mS/cm. No usar agua corriente, ya que frecuentemente tiene concentraciones significativas de minerales como Ca, Mg, K, Cl y otras sales que distorsionarán la medición de conductividad eléctrica.

3. DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE LA CELDA (k)

- * La conductividad eléctrica de una solución salina acuosa aumenta si la temperatura aumenta (aproximadamente 2 % por cada 1 °C). La temperatura estándar para informar la conductividad eléctrica es 25 °C. Si el medidor de conductividad/resistividad usado no compensa por diferencias en la temperatura, un factor de corrección debe ser aplicado.
- * Si el equipo posee ajuste de celda, se sumerge la celda en una solución de conductividad específica conocida y cercana al valor que se espera en el extracto y

se corrige a ese valor de referencia. Por el contrario, si el equipo no posee ajuste de celda se mide la conductividad de la solución de referencia para obtener la constante de celda de la siguiente manera:

$$k = \frac{CE_R}{CE_m}$$

Donde:

CE_R = conductividad eléctrica de referencia.

CE_m = conductividad eléctrica medida.

4. CORRECCIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA POR TEMPERATURA

- * Si el equipo no tiene corrección por temperatura se utiliza un factor de corrección (F1), en función de la temperatura del extracto, de acuerdo a la siguiente fórmula y la Tabla 15:

$$CE (25 \text{ }^\circ\text{C}) = CE \times F1$$

Donde:

CE = conductividad eléctrica leída.

$F1$ = factor correspondiente a la temperatura de lectura.

Tabla 15. Factores para la corrección por temperatura (F_1) de datos de conductividad en extractos de suelo a 25 °C.

| °C | F_1 | °C | F_1 | °C | F_1 | °C | F_1 |
|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|
| 3,0 | 1,709 | 19,8 | 1,117 | 24,6 | 1,008 | 29,6 | 0,914 |
| 4,0 | 1,660 | 20,0 | 1,112 | 24,8 | 1,004 | 29,8 | 0,911 |
| 5,0 | 1,613 | 20,2 | 1,107 | 25,0 | 1,000 | 30,0 | 0,907 |
| 6,0 | 1,569 | 20,4 | 1,102 | 25,2 | 0,996 | 30,2 | 0,904 |
| 7,0 | 1,528 | 20,6 | 1,097 | 25,4 | 0,992 | 30,4 | 0,901 |
| 8,0 | 1,488 | 20,8 | 1,092 | 25,6 | 0,988 | 30,6 | 0,897 |
| 9,0 | 1,448 | 21,0 | 1,087 | 25,8 | 0,983 | 30,8 | 0,894 |
| 10,0 | 1,411 | 21,2 | 1,082 | 26,0 | 0,979 | 31,0 | 0,890 |
| 11,0 | 1,375 | 21,4 | 1,078 | 26,2 | 0,975 | 31,2 | 0,887 |
| 12,0 | 1,341 | 21,6 | 1,073 | 26,4 | 0,971 | 31,4 | 0,884 |
| 13,0 | 1,309 | 21,8 | 1,068 | 26,6 | 0,967 | 31,6 | 0,880 |
| 14,0 | 1,277 | 22,0 | 1,064 | 26,8 | 0,964 | 31,8 | 0,877 |
| 15,0 | 1,247 | 22,2 | 1,060 | 27,0 | 0,960 | 32,0 | 0,873 |
| 16,0 | 1,218 | 22,4 | 1,055 | 27,2 | 0,956 | 32,2 | 0,870 |
| 17,0 | 1,189 | 22,6 | 1,051 | 27,4 | 0,953 | 32,4 | 0,867 |
| 18,0 | 1,163 | 22,8 | 1,047 | 27,6 | 0,950 | 32,6 | 0,864 |
| 18,2 | 1,157 | 23,0 | 1,043 | 27,8 | 0,947 | 32,8 | 0,861 |
| 18,4 | 1,152 | 23,2 | 1,048 | 28,0 | 0,943 | 33,0 | 0,858 |
| 18,6 | 1,147 | 23,4 | 1,034 | 28,2 | 0,940 | 34,0 | 0,843 |
| 18,8 | 1,142 | 23,6 | 1,029 | 28,4 | 0,936 | 35,0 | 0,829 |
| 19,0 | 1,136 | 23,8 | 1,025 | 28,6 | 0,932 | 36,0 | 0,815 |
| 19,2 | 1,131 | 24,0 | 1,020 | 28,8 | 0,929 | 37,0 | 0,801 |
| 19,4 | 1,127 | 24,2 | 1,016 | 29,0 | 0,925 | 38,0 | 0,783 |
| 19,6 | 1,122 | 24,4 | 1,012 | 29,2 | 0,921 | 39,0 | 0,775 |
| | | | | 29,4 | 0,918 | 40,0 | 0,763 |

5. BIBLIOGRAFÍA

- RICHARDS, L. 1972. DIAGNÓSTICO Y REHABILITACIÓN DE SUELOS SALINOS Y SÓDICOS. EDITORIAL LIMUSA S.A. MÉXICO. 5 P.
- JACKSON, M. 1976. ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS. 3 ED. EDICIONES OMEGA S.A. BARCELONA.

ANEXO IV: VALORACIÓN DE SOLUCIONES ÁCIDO Y BASE

La valoración ácido-base permite determinar la concentración de una solución. La valoración consiste en una reacción ácido-base o de neutralización entre el analito y la solución de valoración.

1. INSTRUMENTAL

- 1.1. **Material volumétrico de precisión: buretas, pipetas de doble aforo y matraces calibrados.**
- 1.2. **Vasos de precipitado de 100 mL.**
- 1.3. **Agitador magnético.**
- 1.4. **Buzos magnéticos.**
- 1.5. **Balanza analítica con exactitud 0,001 g.**

2. REACTIVOS

- 2.1. **Fenolftaleína p.a.**
- 2.2. **Alcohol etílico cc. (96 %).**
- 2.3. **Naranja de metilo p.a.**
- 2.4. **Ftalato ácido de potasio ($C_8H_5O_4K$)**
- 2.5. **Solución patrón de ftalato ácido de potasio 1 N. Pesar 204,22 g de ftalato ácido de potasio, previamente secado por dos horas a 105 °C. Registrar la masa exacta pesada. Colocarlo en un vaso de precipitado con 50 mL de agua destilada y homogeneizar con agitador magnético. Trasvasar a matraz de 1000 mL y enrasar.**
- 2.6. **Solución base a estandarizar.**
- 2.7. **Solución ácida a estandarizar.**
- 2.8. **Solución indicadora de fenolftaleína 1 %. Disolver 1 g de indicador fenolftaleína en 100 mL de alcohol 96 %.**
- 2.9. **Solución indicadora de naranja de metilo 0,1 %. Disolver 0,1 g de indicador naranja de metilo en 100 mL de agua destilada.**

3. PROCEDIMIENTO

- 3.1. Pipetear de 2 a 10 mL de solución de ftalato ácido de potasio.
- 3.2. Añadir 3 gotas de solución indicadora de fenolftaleína.
- 3.3. Colocar en una bureta la solución base a estandarizar.
- 3.4. Titular la solución de ftalato ácido de potasio, mezclando con agitador magnético, hasta viraje de color incoloro (en medio ácido) a rosa magenta (medio básico).
- 3.5. Registrar el volumen gastado de la solución base.
- 3.6. Colocar 10 mL de la solución ácido a estandarizar en un vaso de precipitado.
- 3.7. Añadir 3 gotas de solución indicadora naranja de metilo.
- 3.8. Titular la solución ácida con la solución base (en la bureta) hasta el viraje de color, pasando desde color rojizo tenue coral (cercano a pH 3,1) al color amarillo–naranja (pH 4,4).
- 3.9. Registrar el volumen gastado de la solución base.

4. CÁLCULOS

La normalidad de la solución patrón primario de ftalato ácido de potasio (PM: 204 g/eq) se calcula según:

$$N_p \left(\frac{eq}{L} \right) = \frac{m}{204,22}$$

Donde:

N_p = normalidad de la solución patrón primario de ftalato ácido de potasio (eq/L).

m = masa del biftalato ácido de potasio (g).

La normalidad de la solución base (N_b) se calcula según:

$$N_b\left(\frac{eq}{L}\right) = \frac{N_p \times V_p}{V_b}$$

Donde:

N_p = normalidad de solución de ftalato ácido de potasio (eq/L).

V_p = volumen pipeteado de la solución de ftalato ácido de potasio (mL).

V_b = volumen gastado de la solución base (mL).

Para convertir de normalidad a molaridad:

La normalidad de una solución base o ácida puede convertirse en molaridad según:

$$M\left(\frac{mol}{L}\right) = \frac{N}{z}$$

Donde:

N = normalidad de la solución base o ácida (eq/L).

z = valencia química correspondiente al elemento.

Cálculo de la concentración de la solución ácido como Normalidad (eq/L)

$$N_a\left(\frac{eq}{L}\right) = \frac{N_b \times V_b}{V_a}$$

Donde:

N_a = normalidad (eq/L) de solución ácida a estandarizar.

N_b = normalidad (eq/L) de solución base valorada.

V_b = volumen gastado de solución base.

V_a = volumen pipeteado de solución ácida a estandarizar.

Para convertir de Normalidad a Molaridad (mol/L). Solución ácida

$$M_a\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) = \frac{N_a}{z}$$

Donde:

M_a = molaridad (mol/L) de solución ácida a estandarizar.

N_a = normalidad (eq/L) de solución ácida a estandarizar.

z = valencia química correspondiente al elemento.

Otra manera de valorar una solución de ácido sulfúrico u otra solución de ácido fuerte

- * Una solución de ácido sulfúrico puede ser valorada con bórax (tetraborato de sodio decahidratado $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) o con carbonato de sodio (Na_2CO_3).

ANEXO V: PLANILLA DE INGRESO Y REGISTRO DE DATOS ANALÍTICOS DE UNA Y VARIAS MUESTRAS

ABONOS ORGÁNICOS

| Muestra N°: | | | | Muestra N°: | | | | Muestra N°: | | | | Muestra N°: | | | |
|-----------------------------------|--|----------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--------------|----------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--|------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|--|
| Identificación | | | | Identificación | | | | Identificación | | | | Identificación | | | |
| Fecha | | | | Fecha | | | | Fecha | | | | Fecha | | | |
| Observaciones: | | | | Observaciones: | | | | Observaciones: | | | | Observaciones: | | | |
| Salinidad | | | | Salinidad | | | | Salinidad | | | | Salinidad | | | |
| pH 1:5 | | CEA 1:5 | | pH 1:5 | | CEA 1:5 | | pH 1:5 | | CEA 1:5 | | pH 1:5 | | CEA 1:5 | |
| Humedad y Materia Seca | | | | Humedad y Materia Seca | | | | Humedad y Materia Seca | | | | Humedad y Materia Seca | | | |
| Cenizas y M Organica | | | | Cenizas y M Organica | | | | Cenizas y M Organica | | | | Cenizas y M Organica | | | |
| crisol n°: | | Tara crisol: | | crisol n°: | | Tara crisol: | | crisol n°: | | Tara crisol: | | crisol n°: | | Tara crisol: | |
| PBH: | | PBS70: | | PBH: | | PBS70: | | PBH: | | PBS70: | | PBH: | | PBS70: | |
| PBS550 | | | | PBS550 | | | | PBS550 | | | | PBS550 | | | |
| crisol n°: | | Tara crisol: | | crisol n°: | | Tara crisol: | | crisol n°: | | Tara crisol: | | crisol n°: | | Tara crisol: | |
| PBH: | | PBS70: | | PBH: | | PBS70: | | PBH: | | PBS70: | | PBH: | | PBS70: | |
| PBS550 | | | | PBS550 | | | | PBS550 | | | | PBS550 | | | |
| Nutrientes | | | | Nutrientes | | | | Nutrientes | | | | Nutrientes | | | |
| Nitrógeno TOTAL | | g mue hum | N SO ₄ H ₂ | GastoSO ₄ H ₂ | Nitrógeno TOTAL | | g mue hum | N SO ₄ H ₂ | GastoSO ₄ H ₂ | Nitrógeno TOTAL | | g mue hum | N SO ₄ H ₂ | GastoSO ₄ H ₂ | |
| Nitrógeno TOTAL | | g mue hum | N SO ₄ H ₂ | GastoSO ₄ H ₂ | Nitrógeno TOTAL | | g mue hum | N SO ₄ H ₂ | GastoSO ₄ H ₂ | Nitrógeno TOTAL | | g mue hum | N SO ₄ H ₂ | GastoSO ₄ H ₂ | |
| NH ₄ y NO ₃ | | g mue hum | Vol KCl | N SO ₄ H ₂ | NH ₄ y NO ₃ | | g mue hum | Vol KCl | N SO ₄ H ₂ | NH ₄ y NO ₃ | | g mue hum | Vol KCl | N SO ₄ H ₂ | |
| | | Vol pipeteado: | | | | | Vol pipeteado: | | | | | Vol pipeteado: | | | |
| | | gast SO4 NH4: | | | | | gast SO4 NH4: | | | | | gast SO4 NH4: | | | |
| | | gast SO4 NO3: | | | | | gast SO4 NO3: | | | | | gast SO4 NO3: | | | |
| | | gasto p/ 10 ml StNH4 | | | | | gasto p/ 10 ml StNH4 | | | | | gasto p/ 10 ml StNH4 | | | |
| | | gasto p/ 10 ml StNO3 | | | | | gasto p/ 10 ml StNO3 | | | | | gasto p/ 10 ml StNO3 | | | |
| | | gasto p/ bco | | | | | gasto p/ bco | | | | | gasto p/ bco | | | |
| Extracto Clorhídrico | | g mue hum | Vol. Final | | Extracto Clorhídrico | | g muestra | Vol. Final | | Extracto Clorhídrico | | g muestra | Vol. Final | | |
| Fósforoml pip/50mL | | Patrones | Lect | Lectura | Fósforoml pip/50mL | | Patrones | Lect | Lectura | Fósforoml pip/50mL | | Patrones | Lect | Lectura | |
| | | 0 | | | | | 0 | | | | | 0 | | | |
| | | 2 | | | | | 2 | | | | | 2 | | | |
| | | 5 | | | | | 5 | | | | | 5 | | | |
| | | 10 | | | | | 10 | | | | | 10 | | | |
| Potasioml pip/50mL | | Dilución | mg.L ⁻¹ | | Potasioml pip/50mL | | Dilución | mg.L ⁻¹ | | Potasioml pip/50mL | | Dilución | mg.L ⁻¹ | | |

ANEXO VI: DETALLE DE LOS FACTORES DE CORRECCIÓN

1. DENSIDAD APARENTE

1,8 = factor de corrección para expresar en kg/m^3 ; y corresponde del cálculo de $[1800 (\text{cm}^3) \times 1000 (\text{de la equivalencia g a kg}) \div 1000000 (\text{de la equivalencia cm}^3 \text{ a m}^3)]$.

180 = factor de corrección para expresar en kg/m^3 , considerando que la materia seca (MS) se expresa en % y corresponde del cálculo de $[1800 (\text{cm}^3) \times 1000 (\text{de la equivalencia g a kg}) \div 1000000 (\text{de la equivalencia cm}^3 \text{ a m}^3) \times 100]$.

2. NITRÓGENO TOTAL Y KJELDAHL

280 = factor de corrección del cálculo de nitrógeno total y Kjeldahl en residuos sólidos para expresar en %; considerando 28 g de nitrógeno por mol.

28 = factor de corrección del cálculo de nitrógeno Kjeldahl en efluentes para expresar en g/L; considerando 28 g de nitrógeno por mol.

3. NITRÓGENO DE AMONIO Y NITRATO

28000 = factor de corrección del cálculo de nitrógeno de amonio y nitrato en residuos sólidos para expresar en mg/Kg_{bs} ; considerando 14 (g/eq de masa molecular del nitrógeno) $\times 1000$ (equivalencia de g en Kg) $\times 2$ (eq/mol H_2SO_4)

28000 = factor de corrección del cálculo de nitrógeno amoniacal en efluente para expresar en mg/L; considerando 14 (g/eq de masa molecular del nitrógeno) $\times 2$ (eq/mol H_2SO_4) $\times 1000$ (mL/L de muestra) $\times 1000$ (mg/g) / 1000 (mL/L titulado).

ANEXO VII: INDICADORES DEL PROCESO DE COMPOSTAJE

1. INTRODUCCIÓN

Existen variables químicas, físicas y microbiológicas que permiten evaluar el proceso de compostaje y monitorear las pilas en el campo. Algunas de esas variables se incluyen en el presente compendio metodológico.

Por otro lado, existen indicadores para determinar la calidad del compost obtenido como producto final del compostaje. Según normas nacionales e internacionales, se recomienda determinar parámetros de estabilidad, madurez, contenido de patógenos, elementos potencialmente tóxicos, impurezas y semillas de malezas viables.

2. INDICADORES DEL PROCESO DE COMPOSTAJE

Se detallan los indicadores para evaluar el proceso de compostaje con el método correspondiente:

* **Temperatura:** El incremento de la actividad biológica genera calor, elevando la temperatura en la masa de los residuos en degradación. Ese aumento en las primeras fases del compostaje indica la presencia de materiales muy degradables y un correcto desarrollo del proceso. El mantenimiento de temperaturas elevadas asegura la higienización del material durante la etapa termofílica, pero puede presentar problemas de inhibición de la actividad de la mayoría de los microorganismos si éstas son muy elevadas. Por lo tanto, es necesario conseguir un equilibrio entre la máxima higienización y la biodegradación. Se considera que la mayor diversidad microbiana se consigue entre 35 y 40 °C, la máxima biodegradación entre 45 y 55 °C y la higienización cuando se superan los 55 °C (Barrena Gómez, 2006). A su vez, la temperatura que se alcanza en cada etapa depende de la energía desprendida, de las pérdidas (convección, radiación, conducción) y de la capacidad de almacenar calor. La temperatura de las pilas de compost se mide con termómetros que presentan distinta longitud, si bien se recomiendan

termómetros de longitudes mayores a 60 cm. La temperatura deberá medirse en distintos puntos de la pila, tratando de introducir el termómetro hasta una profundidad cercana al centro de la pila de compost. Esta variable permite determinar el estado del proceso y establecer la fase del proceso de compostaje donde se encuentra, siendo la fase mesófila inicial (temperatura de 10 a 45 °C), fase termófila (temperatura de 45 a 75 °C), segunda fase mesófila (temperatura < 40 °C) y finalmente una fase de maduración con temperaturas cercanas a la del ambiente.

* **Humedad:** El contenido de agua retenida en residuos orgánicos a compostar es muy importante, debido a que los microorganismos pueden degradar eficientemente las moléculas orgánicas. Si la humedad es baja, la actividad biológica comienza a disminuir; el contenido de humedad crítico, por debajo del cual la actividad biológica se reduce es 40 %. Para contenidos por debajo del 20 % no hay actividad biológica (Haug, 1993). Por otro lado, si el contenido de humedad es elevado y la porosidad es baja, se produce una disminución en la transferencia de oxígeno y consecuentemente la actividad metabólica aerobia se reduce. Esto puede provocar la generación de malos olores, lixiviación y pérdida de nutrientes en condiciones anaeróbicas.

* **Porosidad:** La porosidad de un material sólido es la fracción ocupada por aire y agua, es decir, aquel espacio que no está ocupado por la fracción sólida del residuo. Si el residuo carece de porosidad debe ser acondicionado con material estructurante para facilitar la existencia de poros de distintos tamaños que estén ocupados equilibradamente con aire y agua. Un término muy utilizado para describir esta propiedad es el FAS (*Free Air Space*), el cual se define como el volumen disponible con aire respecto del total, que no se encuentra ocupado por agua y la fracción sólida. Haug (1993) define como valor óptimo para el compostaje de residuos, un valor de FAS equivalente al 30 %, mientras otros autores amplían este valor a un rango óptimo de 30-60 % (Annan and White, 1999).

* **Relación carbono:nitrógeno (C:N):** Los microorganismos descomponedores que intervienen en el proceso de compostaje requieren de nutrientes. Generalmente, los residuos presentan un elevado contenido de nutrientes, aunque muchas veces se encuentran inmovilizados. Los elementos que se requieren en mayor cantidad son el carbono (C) y el nitrógeno (N) y ambos elementos deben encontrarse en una proporción adecuada en la mezcla de residuos a compostar. Se considera que una relación C:N óptima para iniciar un proceso de compostaje es de 25-35, ya que se estima que por cada unidad de N los microorganismos utilizan de 15 a 30 unidades de C para llevar a cabo reacciones metabólicas. Relaciones C:N mayores a ese rango, ej. aserrín o residuos vegetales, retardan el proceso mientras que relaciones muy bajas, ej. estiércoles de aves o cerdos, generan pérdidas de N. En el caso de no cumplir con la C:N óptima se realiza una mezcla de los diferentes residuos disponibles hasta alcanzar esa relación. Este indicador se determina de la siguiente manera:

Relación carbono:nitrógeno = carbono orgánico total (%) / nitrógeno orgánico total (%)

* **pH:** Es un parámetro que condiciona la abundancia de ciertos microorganismos, ya que valores extremos generan una reducción en la diversidad. Valores de pH cercanos a la neutralidad (pH = 7) al inicio del proceso de compostaje, permiten desarrollar una población microbiana más variada entre bacterias y hongos. El rango de valores óptimo, según diversos autores, es de 5,5-8 (de Bertoldi *et al.*, 1983; Miller, 1992), aunque un rango de pH de 6,7-9 permite el desarrollo de una adecuada actividad microbiana durante el compostaje (Bernal *et al.*, 2017). Por lo general, residuos pecuarios presentan valores adecuados de pH, sin embargo, residuos agroindustriales pueden presentar valores ácidos, principalmente residuos de olivicultura y la industria vitivinícola (Bernal *et al.*, 2017). El pH puede ser utilizado como un indicador de la evolución del proceso de compostaje. Durante las primeras etapas del compostaje, el pH aumenta debido a la degradación de ácidos orgánicos y la formación de amoníaco a partir de la mineralización de aminoácidos y proteínas. Posteriormente, durante las fases de enfriamiento y maduración, el pH disminuye debido al proceso de nitrificación que se inhibe a temperaturas termófilas (Bernal *et al.*, 2017).

Una reducción brusca del pH durante algún momento del proceso puede indicar condiciones anaeróbicas. Los microorganismos en ausencia de oxígeno producen ácidos de cadena corta como producto metabólico, acidificando el medio.

3. INDICADORES DE ESTABILIDAD Y MADUREZ

Los términos madurez y estabilidad del compost a menudo son utilizados indistintamente, aunque cada una se refiere a las propiedades específicas de estos materiales.

El término **estabilidad** se refiere a las propiedades del compost relacionadas con la disminución del C fácilmente biodegradable y actividad microbiana (a mayor estabilidad, menor degradabilidad y actividad microbiana), mientras que **madurez** se refiere a la finalización efectiva del proceso de compostaje en un producto sin sustancias fitotóxicas que puedan afectar el crecimiento vegetal (Barrena Gómez, 2006; CCQC, 2001, Mazzarino & Satti, 2012; Sánchez *et al.*, 2016).

La estabilidad indica el grado de descomposición biológica que los residuos orgánicos han alcanzado durante el compostaje y está relacionada con la actividad microbiana. Por lo tanto, la estabilidad es una propiedad clave que debe poseer un compost maduro.

La madurez es el grado o nivel de finalización efectiva del compostaje. Las características del compost como el color y el olor dan una idea general de la etapa de descomposición alcanzada, pero dan poca información con respecto al grado de maduración. Un compost maduro no debe generar efectos negativos en la germinación de semillas o el crecimiento de plantas, lo que implica un contenido de materia orgánica estable y la ausencia de compuestos fitotóxicos y patógenos de plantas o animales.

3.1. INDICADORES DE ESTABILIDAD

* **Índice respirométrico:** La respiración se considera una medida de la actividad biológica. Este parámetro puede proporcionar una medida fiable y repetitiva de la actividad microbiológica de un material. Las técnicas respirométricas consisten en la medida del oxígeno (O₂) consumido o el dióxido de carbono (CO₂) producido por microorganismos heterótrofos aerobios presentes en el proceso de compostaje, y en consecuencia son indicadoras de la actividad biológica de un material. Los microorganismos

utilizan O₂ y generan CO₂, vapor de agua y calor durante la descomposición aeróbica de la materia orgánica. La población microbiana respira a tasas muy elevadas en compost biológicamente inestables, es decir que consumen más O₂ y producen más CO₂ y vapor de agua que un compost más estable. El consumo de O₂ durante el compostaje está determinado por la tasa de actividad biológica aerobia. La actividad biológica aerobia y las tasas de respiración están directamente relacionadas con la estabilidad del compost (a mayor estabilidad, menor consumo de O₂) (Barrena *et al.*, 2006).

El índice respirométrico (IR) se puede definir como la velocidad de consumo de O₂ o la producción de CO₂ de una muestra de compost en condiciones de ensayo determinadas. La actividad respirométrica puede determinarse directamente a través del consumo de O₂ o de la producción de CO₂, o indirectamente a través del calor generado. Aquellos métodos respirométricos basados en el consumo de O₂ proporcionan información concreta con valores precisos sobre la actividad de un compost. Los métodos basados en el consumo de O₂ se dividen en dos clases: estáticos y dinámicos. En los métodos dinámicos, el aporte de O₂ es continuo, minimizando de esta forma las limitaciones en la difusión de oxígeno. Por otro lado, los métodos estáticos son aquellos donde no existe un aporte continuo de aire durante la medición (Barrena *et al.*, 2006). La respirometría estática permite medir los cambios en la concentración de O₂ en un espacio de aire, dentro de un recipiente cerrado herméticamente que contiene una muestra de compost de humedad, volumen y peso conocidos, en condiciones controladas de temperatura y disponibilidad de O₂.

El procedimiento para la determinación del índice respirométrico estático (IRE) se basa en incubar una muestra de compost (250 mL aprox.) a temperatura constante (37 °C) y condiciones aeróbicas, durante 18 horas. De esta forma, se consigue aclimatar a las poblaciones microbianas del material y operar en condiciones óptimas para el desarrollo de las mismas. Luego del período de incubación, se detiene el aporte de aire y se mide el consumo de O₂ de la población microbiana aclimatada. Este consumo se determina mediante un electrodo de oxígeno. A partir de la velocidad de consumo de O₂, se obtiene finalmente un índice respirométrico estático (IRE) que proporciona información del grado de actividad del compost. Se considera que un compost es muy estable biológicamente, cuando el IRE < 0,5 mg O₂ g MO⁻¹ h⁻¹ (Barrena *et al.*, 2006).

* **Relación C:N:** Este parámetro no sólo permite el monitoreo del proceso de compostaje, sino que indica la estabilización de la materia orgánica. Valores cercanos a 30 indican inestabilidad, mientras que valores cercanos a 15, un compost estabilizado. Sin embargo, algunos residuos pecuarios presentan valores de relación C:N inferiores a 15, sin ser estables biológicamente. Por lo tanto, es recomendable evaluar dos parámetros de estabilidad y dos de madurez.

3.2. INDICADORES DE MADUREZ

Los indicadores de madurez se basan en estudios de fitotoxicidad directos (ensayos con plantas terrestres) o indirectos (determinación de productos potencialmente tóxicos como fenoles, amonio y ácidos grasos volátiles) (Mazzarino & Satti, 2012; Sánchez *et al.*, 2016). Sin embargo, los límites de los indicadores de madurez pueden estar determinados por el destino o uso del compost producido (Tabla 16). Generalmente, la fitotoxicidad de los compost se asocia al alto contenido de sales presentes en estiércoles y residuos orgánicos (Mazzarino & Satti, 2012). Se han descrito numerosos y diversos métodos para determinar madurez de un compost. Sin embargo, no existe un método directo estandarizado, ya que se utilizan varias especies (lechuga, rabanito, cebada, ryegrass, tomate, etc.), diferentes diluciones y procedimientos para generar los extractos de compost y diversos cálculos para obtener los índices de fitotoxicidad. Esta falta de consenso, dificulta la interpretación y extrapolación de resultados, como así también el establecimiento de valores límites.

En la Tabla 16 se detallan algunos indicadores de estabilidad y madurez con los valores recomendados según diversos autores (Mazzarino & Satti, 2012).

Tabla 16. Indicadores de estabilidad, madurez y valores límites recomendados por diversos autores (Mazzarino & Satti, 2012).

| Parámetros | Valores recomendados |
|---|---|
| Producción de CO ₂ | ≤ 120 mg C-CO ₂ /kg/h < 200 mg C-CO ₂ /kg/h |
| CO ₂ /C orgánico | < 5 mg C-CO ₂ /g C org |
| Amonio (NH ₄ ⁺) | < 400 mg N-NH ₄ ⁺ /kg < 500 mg N-NH ₄ ⁺ /kg |
| Carbono soluble en agua (CSA) | < 17 g/kg ≤ 10 g/kg < 5 g/kg < 4 g/kg |
| CSA/N total | ≤ 0,7 < 0,3 |
| CSA/N soluble en agua | < 2 |
| Amonio/nitrato | < 0,16 < 0,3 |
| Nitrato/CO ₂ | > 8 mg N-NO ₃ /mg C-CO ₂ /d |
| C _{AH} /C _{AF} ^a | > 1,9 |
| Índice de germinación | > 50 % > 60 % > 80 % |
| Crecimiento de plantas | > 90 % (ensayos con cebada a 25 y 50 % de compost) > 60 % (ensayos con rabanito y 100 % de compost lavado) |

Referencia. a: C_{AH} = Concentración de ácidos húmicos, C_{AF} = Concentración de ácidos fúlvicos.

4. INDICADORES DE CALIDAD

* **Presencia de microorganismos patógenos:** En cuanto a la calidad de compost, se evalúa principalmente la aptitud agronómica, es decir que se contempla su valor como enmienda, abonos orgánicos y sustratos de plantas en maceta. Los indicadores de calidad se basan principalmente en la determinación de características físicas y químicas vinculadas a las distintas formas de C y N, como así también a la respuesta de los cultivos (rendimiento y absorción de nutrientes) (Mazzarino & Satti, 2012; Sánchez *et al.*, 2016). En consecuencia, al referirse al término calidad es necesario considerar los conceptos de estabilidad, madurez, como así también la presencia de patógenos, concentración de elementos potencialmente tóxicos y semillas de malezas. Recientes investigaciones indican que los parámetros de calidad deberían incluir aspectos de nutrición vegetal, humificación de la materia orgánica, aspectos sanitarios y estabilidad microbiológica (Bernal *et al.*, 2017).

Un aspecto muy importante que influye en la calidad de compost, es la presencia de patógenos. Los residuos pecuarios presentan microorganismos patógenos, constituyendo un riesgo para la salud humana y animal. El calentamiento de la masa de residuos a compostar es un método ampliamente aceptado para inactivar patógenos y está incluido en diversos esquemas de saneamiento y reglamentos para el uso de lodos y estiércoles en suelos. En la Tabla 17 se detallan diversos tratamientos desinfectantes y recomendaciones para una gestión segura del estiércol, según la Unión Europea y otros reglamentos (Bernal *et al.*, 2017). Por otro lado, la Tabla 18 muestra los límites superiores de concentración de patógenos para el uso de compost en diversos reglamentos internacionales (Bernal *et al.*, 2017).

Tabla 17. Tratamientos higienizantes y recomendaciones para la gestión segura del estiércol, según la Unión Europea y otros reglamentos (Bernal et al., 2017).

| Manejo | Tratamiento |
|--------------------------------|--|
| Compostaje de residuos sólidos | Más de 2 semanas por encima de 55 °C acumulado en pilas de compostaje, mezclando 5 veces durante ese periodo |
| Compostaje de lodos cloacales | Más de 1 semana por encima de 55 °C acumulado en pilas de compostaje |
| Compostaje en reactores | 4 horas por encima de 55 °C |
| Compostaje | Dos volteos durante la primera semana, y alcanzando temperaturas > 55 °C, duración del proceso de compostaje > 3 meses |
| Tratamiento con cal | Adición de cal para alcanzar pH = 12 durante > 2 h |
| Tratamiento con urea | Adición de urea al 2 % durante 1 semana |

Tabla 18. Límites superiores de concentración de patógenos para el uso de compost en agricultura, jardines y recuperación de suelo.

| Dinamarca ^a | Reino Unido ^a | España ^a | EEUU ^b | | Argentina ^d |
|-------------------------------------|---------------------------------|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| | | | Clase A | Clase B ^c | |
| <i>E. coli</i> <100 UFC/g (pf) | <i>E. coli</i> <1000 UFC/g (pf) | <i>E. coli</i> <1000 NMP/g (pf) | Coliformes fecales <1000 NMP/g (ps) | Coliformes fecales <2x10 ⁶ NMP/g (ps) o <2x10 ⁶ UFC/g (ps) | Coliformes fecales <1000 NMP/g (ps) |
| <i>Enterococcae</i> <100 UFC/g (pf) | Sin especificaciones | <i>Enterococcae</i> 10 ⁴ -10 ⁵ NMP/g <i>Clostridium perfringens</i> 10 ² -10 ³ NMP/g <i>Listeria monocytogenes</i> ausencia en 1 g | Sin especificaciones | Sin especificaciones | Sin especificaciones |
| <i>Salmonella</i> , ausencia | <i>Salmonella</i> , ausencia | <i>Salmonella</i> , no detectada en 25 g (pf) | <3 NMP/4 g (ps) | — | 1 NMP/4 g (ps) |

Referencias. pf: peso fresco; ps: peso seco; a: Bernal et al., (2017); b: Mazzarino & Satti, (2012); c: los compost clase B tienen restricciones de uso; d: SCyMA y SENASA (2019).

* **Contenido de elementos potencialmente tóxicos:** Otro aspecto muy importante que define la calidad de un compost, es el contenido de metales pesados o también denominados elementos potencialmente tóxicos (EPT). Los residuos orgánicos pueden ser una fuente de contaminación puntual de metales pesados y otros elementos, que a bajas concentraciones generan toxicidad en organismos vivos.

La Tabla 19 detalla los valores límites de EPT presentes en compost para definir su calidad en diversos países.

Tabla 19. Concentraciones máximas de elementos potencialmente tóxicos (EPT) establecidos para calidad de compost en diferentes países (mg/Kg peso seco).

| EPT | RU ^a | España ^b | | | Alemania ^c | Dinamarca ^d | | ECN-QAS ^e | UE ^f | Canadá ^g | | EEUU ^h | Argentina ⁱ | |
|-----------|-----------------|---------------------|------|----------------|-----------------------|------------------------|--------------------|----------------------|-----------------|---------------------|------|-------------------|------------------------|------|
| | | Clase ¹ | | | | Ps | En PT | | | Clase ¹ | | | Clase ¹ | |
| | | A | B | C ³ | | | | | | | A | B | | A |
| As | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 13 | 75 | n.d. | 15 | 30 |
| Cd | 1,5 | 0,7 | 2 | 3 | 1,5 | 0,8 | 100 | 1,3 | 1,5 | 3 | 20 | 10–100 | 1,5 | 3 |
| Co | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 34 | 150 | n.d. | n.d. | n.d. |
| Cu | 200 | 70 | 300 | 400 | 100 | 1000 | n.d. | 300 | 100 | 400 | n.d. | 450–3000 | 150 | 450 |
| Cr | 100 | 70 | 250 | 300 | 100 | 100 | n.d. | 60 | 200 | 210 | n.d. | 1000–2000 | 100 | 270 |
| Hg | 1 | 0,4 | 1,5 | 2,5 | 1 | 0,8 | n.d. | 0,45 | 1 | 0,8 | 5 | 5–15 | 0,7 | 5 |
| Mo | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 5 | 20 | n.d. | n.d. | n.d. |
| Ni | 50 | 25 | 90 | 100 | 50 | 30 | 2500 | 40 | 50 | 62 | 180 | 50–500 | 30 | 120 |
| Pb | 200 | 45 | 150 | 200 | 150 | 120 ² | 10000 ² | 130 | 120 | 150 | 500 | 250–1500 | 100 | 150 |
| Se | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 2 | 14 | n.d. | n.d. | n.d. |
| Zn | 400 | 200 | 500 | 1000 | 400 | 4000 | n.d. | 600 | 600 | 700 | 1850 | 900–10000 | 300 | 1100 |

Referencias. Ps: peso seco; PT: fósforo total; RU: Reino Unido; UE: Unión Europea. 1: Las letras A, B y C indican clase en función a la calidad, siendo A aquellos que no presentan restricciones de uso (mejor calidad) y B o C presentando mayores restricciones (menor calidad); 2: Para uso en jardines y parquización, la concentración de Pb en compost debería ser menor a 60 mg/Kg ps y 5000 mg/Kg P total, debido al riesgo para niños; 3: Compost de clase C pueden ser aplicados en suelos agrícolas hasta 5 Mg/ha. año. Para EEUU, los valores representan rangos valores estándares establecidos en distintos estados; a: BSI (2011); b: Ministerio de la Presidencia (2013); c: RAL- GZ 251, d: Danish Ministry of Environment (2006); e: European Compost Network (2014); f: Saveyn and Eder (2014); g: CCME (2005); h: US EPA (1993); i: SCyMA y SENASA (2019).

5. BIBLIOGRAFÍA

- ANNAN, J.S. & WHITE, R.K. 1998. EVALUATION OF TECHNIQUES FOR MEASURING AIR-FILLED POROSITY IN COMPOSTS OF MUNICIPAL BIOSOLIDS AND WOOD CHIPS, IN K.C. DAS AND E.F. GRAVES, PROC. OF THE CONFERENCE OF COMPOSTING IN THE SOUTH EAST., PROCEEDINGS OF THE 1998 CONFERENCE, USA.
- BARRENA GÓMEZ, R. 2006. COMPOSTAJE DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS. APLICACIÓN DE TÉCNICAS RESPIROMÉTRICAS EN EL SEGUIMIENTO DEL PROCESO. TESIS DE DOCTORADO EN INGENIERÍA QUÍMICA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA, ESPAÑA.
- BARRENA GÓMEZ, R., VÁZQUEZ LIMA, F. & SÁNCHEZ FERRER, A. 2006. THE USE OF RESPIRATION INDICES IN THE COMPOSTING PROCESS: A REVIEW. WASTE MANAGEMENT AND RESEARCH, 24: 37-47.
- BERNAL, M.P., SOMMER, S.G., CHADWICK, D., QING, C., GUOXUE, L. & MICHEL, F.C. 2017. CURRENT APPROACHES AND FUTURE TRENDS IN COMPOST QUALITY CRITERIA FOR AGRONOMIC, ENVIRONMENTAL, AND HUMAN HEALTH BENEFITS. PP. 143-233. DOI:10.1016/BS.AGRON.2017.03.002
- BSI. 2011. PAS 100:2011. SPECIFICATION FOR COMPOSTED MATERIALS. BRITISH STANDARDS INSTITUTION, LONDON, UK.
- CCME. 2005. GUIDELINES FOR COMPOST QUALITY. CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT, MANITOBA, CANADA.
- CCQC. 2001. COMPOST MATURITY INDEX: TECHNICAL REPORT. CALIFORNIA COMPOST QUALITY COUNCIL.
- DANISH MINISTRY OF ENVIRONMENT. 2006. BEKENDTGØRELSE OM ANVENDELSE AF AFFALD TIL JORDBRUGSFORMÅL (DIRECTIVE FOR THE USE OF WASTE IN AGRICULTURE). BEK #1650 FROM 13RD OF DECEMBER 2006.
- DE BERTOLDI, M., VALLINI, G. & PERA, A. 1983. THE BIOLOGY OF COMPOSTING: A REVIEW. WASTE MANAG. RES., 1, 157-176.
- EUROPEAN COMPOST NETWORK. 2014. ECN-QAS EUROPEAN QUALITY ASSURANCE SCHEME FOR COMPOST AND DIGESTATE. [HTTP://WWW.COMPOSTNETWORK.INFO](http://www.compostnetwork.info).
- HAUG, R.T. 1993. THE PRACTICAL HANDBOOK OF COMPOST ENGINEERING. LEWIS PUBLISHERS, BOCA RATON, FLORIDA, ESTADOS UNIDOS.

- MAZZARINO, M.J. & SATTI, P. 2012. COMPOSTAJE EN LA ARGENTINA: EXPERIENCIAS DE PRODUCCIÓN, CALIDAD Y USO. ORIENTACIÓN GRÁFICA EDITORA, BUENOS AIRES, ARGENTINA.
- MILLER, F.C. 1992. COMPOSTING AS A PROCESS BASED ON THE CONTROL OF ECOLOGICALLY SELECTIVE FACTORS. *IN*: METTING JR., F.B. (ED.), SOIL MICROBIAL ECOLOGY. APPLICATIONS IN AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL MANAGEMENT. MARCEL DEKKER, INC., NEW YORK, PP. 515–544.
- MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA. 2013. REAL DECRETO 506/2013, DE 28 DE JUNIO, SOBRE PRODUCTOS FERTILIZANTES. BOE 164, 51119–51207.
- RAL. 2007. KOMPOST—GÜTESICHERUNG RAL-GZ 251, ED. DEUTSCHES INSTITUT FÜR GÜTESICHERUNG UND KENNZEICHNUNG E.V., SANKT AUGUSTIN. RAL-GZ 251. [HTTP://WWW.KOMPOST.DE/UPLOADS/MEDIA/COMPOST_COURSE_GESAMT_01.PDF](http://www.kompost.de/uploads/media/compost_course_gesamt_01.pdf).
- SÁNCHEZ, A., GABARRELL, X., ARTOLA, A., BARRENA, R., COLÓN, J., FONT, X. & KOMILIS, D. 2016. COMPOSTING OF WASTES. PP. 77-106. *IN*: TAHERZADEH, M.J. & RICHARDS, T. (EDS.). RESOURCE RECOVERY TO APPROACH ZERO MUNICIPAL WASTE. TAYLOR AND FRANCIS GROUP, BOCA RATÓN, FLORIDA, UNITED STATES.
- SAVEYN, H. & EDER, P. 2014. END-OF-WASTE CRITERIA FOR BIODEGRADABLE WASTE SUBJECTED TO BIOLOGICAL TREATMENT (COMPOST & DIGESTATE): TECHNICAL PROPOSALS. PUBLICATIONS OFFICE OF THE EUROPEAN UNION, LUXEMBOURG. AVAILABLE AT: [HTTP://WWW.JRC.EC.EUROPA.EU](http://www.jrc.ec.europa.eu).
- SCYMA & SENASA. 2019. RESOLUCIÓN CONJUNTA 1/19 - MARCO NORMATIVO PARA LA PRODUCCIÓN, REGISTRO Y APLICACIÓN DE COMPOST. CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES. ARGENTINA: RETRIEVED FROM [HTTPS://WWW.ARGENTINA.GOB.AR/NORMATIVA/NACIONAL/RESOLUCI%C3%B3N-1-2019-318692/TEXTO](https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resoluci%C3%B3n-1-2019-318692/texto).
- US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 1993. MARKETS FOR COMPOST. EPA/530-SW90-073A.

Este compendio de métodos analíticos es el resultado del consenso y esfuerzo de especialistas pertenecientes a distintos laboratorios del INTA, INTI, SENASA, Universidades y otros del sector privado. Todos han colaborado en la aplicación de métodos analíticos a través de cuatro interlaboratorios, realizando valiosos aportes para la confección de este material.

Los métodos descritos pretenden resultar una propuesta práctica, comprensible y de fácil aplicación en cada laboratorio que desee realizar un diagnóstico de residuos agropecuarios e industriales. El analista podrá evaluar la calidad y determinar las características físico-químicas de residuos, compost y efluentes de su área productiva pertinente. Además, en cada método, se podrá apreciar nuestra impronta regional, a través de algunas sugerencias y experiencias transmitidas a través de rutinas y hábitos de cada laboratorio que pueden ser útiles para el analista.

Uno de los objetivos planteados a inicios del 2013 fue desarrollar herramientas de diagnóstico y metodologías analíticas aplicables a la caracterización de los residuos orgánicos sólidos y líquidos generados por la actividad agropecuaria y agroindustrial. La implementación de estos métodos permitirá valorar la aptitud en la reutilización agrícola, evaluar procesos de tratamiento de residuos y efluentes, y detectar contaminantes que podrían resultar nocivos para el ambiente. Otro aporte, es la descripción de los resultados analíticos obtenidos durante cuatro años consecutivos de rondas de interlaboratorios y a partir de tres materiales: cama de caballo, compost y efluente porcino.

Finalmente, con este compendio de métodos analíticos pretendemos generar un precedente que contribuya a estandarizar las metodologías de análisis para futuros trabajos de tratamiento y valoración de los residuos y efluentes agropecuarios y agroindustriales.



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Argentina