

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

# ELABORACIÓN DE UN MATERIAL DE REFERENCIA INTERNO PARA ANÁLISIS DE MACROELEMENTOS EN SUELOS DE ECUADOR

Aucatoma, Bolívar<sup>a</sup>; Cuesta, Cristina<sup>b</sup>; Ramos, Luis<sup>c,b\*</sup>; Quishpillo, Nadinec<sup>c</sup>; Alcívar-León, Christian<sup>d</sup>; Echeverría, Armando<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador\_CINCAE, El Triunfo, Ecuador

<sup>b</sup> Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario\_AGROCALIDAD, Quito, Ecuador

<sup>c</sup> Centro de Investigación de Alimentos\_CIAL, Universidad UTE, Quito, Ecuador.

<sup>d</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador

<sup>e</sup> Universidad Internacional del Ecuador, Quito, Ecuador

## Resumen

En el Ecuador son escasos los materiales de referencia certificados (MRCs) de suelos para la evaluación de macronutrientes disponibles extraídos con el reactivo denominado Olsen Modificado. Por lo que, esta investigación tuvo como objetivo la elaboración de materiales de referencia interno (MRI) en matrices de suelos cañeros de la cuenca baja del Río Guayas para la determinación del contenido disponible de los macronutrientes: fósforo, potasio, calcio y magnesio extraídos con la solución de Olsen Modificado. Para esto, el Laboratorio Químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) tomó una muestra de suelo en cada uno de los ingenios San Carlos, Valdez y La Troncal (Coazucar) de tres de los órdenes más representativos Inceptisol (MRI 1), Entisol (MRI 2) y Vertisol (MRI 3), respectivamente. Las muestras se acondicionaron, homogenizaron y dividieron cada una en 100 submuestras. La homogeneidad se determinó en 14 submuestras sobre las que se analizaron los macronutrientes extraídos mediante Olsen Modificado con 6 repeticiones. Estas submuestras se evaluaron, además, como parte de un ensayo de intercomparación realizado por la Red de Laboratorios del Ecuador (RELASE). Los resultados obtenidos permitieron determinar la exactitud del método, incertidumbre y límite de confianza para cada uno de los parámetros en los tres MRI. Posteriormente, después de seis meses se

evaluó la estabilidad de los materiales realizando el análisis de las mismas submuestras tomadas para la evaluación de la homogeneidad obteniéndose buenos resultados. El proceso de preparación y evaluación de los tres MRI que permitirán evaluar la calidad de las determinaciones de macronutrientes en suelos en el laboratorio del CINCAE resultó exitoso.

**Palabras clave:** ensayo interlaboratorio, extractante Olsen modificado, macroelementos, material de referencia interno, suelos cañeros.

## PREPARATION OF AN INTERNAL REFERENCE MATERIAL FOR THE ANALYSIS OF MACROELEMENTS IN SOILS OF ECUADOR

### Abstract

In Ecuador, no certified reference materials (CRM) of soils are available for evaluating available macronutrients extracted with the reagent Modified Olsen. Therefore, this research had as its objective the elaboration of internal reference materials (IRM) in matrices of sugarcane soils of the lower basin of the Guayas River for the determination of the available content of the macronutrients phosphorus, potassium, calcium, and magnesium extracted with Olsen Modified reagent. For this, the Chemical Laboratory of the Ecuadorian Sugarcane Research Center (CINCAE) took a soil sample in each of the San Carlos, Valdez, and La Troncal (Coazul) production sites from three

\* Correspondencia a: Centro de Investigación de Alimentos\_CIAL, Universidad UTE, Av. Mariscal Sucre y Av. Mariana de Jesús, Quito, Ecuador. Teléfono: +593 02 2990800. Correo electrónico: luis.ramos@ute.edu.ec

of the most representative Inceptisol orders (MRI 1), Entisol (MR2) and Vertisol (MRI3), respectively. The samples were conditioned, homogenized and each divided into 100 subsamples. The homogeneity will be prolonged in 14 subsamples on which the macronutrients extracted with Modified Olsen were analyzed with 6 repetitions. These subsamples were also evaluated as part of an intercomparison test conducted by the Network of Laboratories of Ecuador (RELASE). The results allowed us to determine the accuracy of the method, the uncertainty, and the confidence limit for each of the parameters in the three MRIs. Subsequently, in six months, the stability of the materials was evaluated by analyzing the same subsamples taken for the evaluation of homogeneity, obtaining good results. The preparation and evaluation process of the three IRMs that will allow evaluation of the quality of macronutrient determinations in soils in the CINCAE laboratory was successful.

**Keywords:** intercomparison test, internal reference material, macroelements, modified Olsen extractant, sugarcane soils.

## I. INTRODUCCIÓN

El uso de materiales de referencia certificados (MRCs) en laboratorios de análisis de suelos es una práctica necesaria para asegurar la calidad de los resultados analíticos. Los MRCs en parámetros P, K, Ca y Mg para el extractante Olsen Modificado (ampliamente utilizado en Ecuador) son escasos y suelen ser costosos por la gran cantidad de matrices y por no ser de uso generalizado. Debido a esta dificultad, los laboratorios elaboran sus materiales de referencia internos (MRI) para matrices de suelos ya que su composición química depende del lugar de donde provienen las muestras y la caracterización del contenido de elementos químicos del suelo disponible para las plantas, se realiza con diferentes tipos de extractantes de acuerdo al país o región [1].

En vista que la mayoría de laboratorios de análisis de suelos del país determinan los macroelementos con el extractante Olsen modificado, la falta de MRC con este extractante y la búsqueda de reducir la variabilidad de los resultados entre laboratorios del país, da lugar a la creación en octubre de 2001 de la Red de Laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador (RELASE), con 11 laboratorios incluyendo el Laboratorio Químico de CINCAE, el cual plantea estandarizar los métodos de análisis

con el extractante antes mencionado. En 2017 la Red integrada por 15 laboratorios evidencian que el 70 % de laboratorios reportan resultados satisfactorios en los elementos fósforo, potasio, calcio, magnesio, zinc, cobre, hierro y manganeso [2] sin embargo, cada laboratorio tiene diferencias de infraestructura, equipos, materiales, reactivos, personal calificado, lo que genera que cada ronda de intercomparación, no todos los parámetros se encuentren normalizados. Por este motivo el Laboratorio Químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) propone elaborar un MRI que permita evaluar periódicamente el desempeño del laboratorio, para lo cual se debe tomar en cuenta que un material de referencia debe contar con ciertas propiedades, como ser homogéneo y estable con respecto a propiedades específicas [3]; además, debe ser en una matriz semejante a las muestras que se analizarán rutinariamente.

Una medida de control de la exactitud en el análisis de suelos que utiliza el CINCAE es la comparación de sus resultados con los promedios de las intercomparaciones realizadas por la RELASE. Esta medida permite ver el desempeño del laboratorio al compararlo con toda la RED en pruebas interlaboratorios [4]. Es necesario mantener controles rutinarios, por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es elaborar tres materiales de referencia internos (MRI 1, MRI 2 y MRI 3) en los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado en los suelos de los órdenes Inceptisol, Entisol y Vertisol, respectivamente. Para lo cual se siguió la siguiente metodología, toma de muestra de suelo en cada uno de los ingenios de los tres órdenes más representativos de las áreas de cultivo de caña de azúcar de la cuenca baja del río Guayas. Luego las muestras se acondicionaron, se homogenizaron y, se dividieron cada una en 100 submuestras, después se evaluó la homogeneidad de los materiales; su estabilidad en la cuantificación del contenido disponible de los elementos P, K, Ca y Mg extraídos con solución de Olsen Modificado; se determinó la precisión y exactitud de los resultados del Laboratorio Químico del CINCAE utilizando como valor de referencia los promedios de una intercomparación de RELASE y se calculó el promedio, el intervalo de confianza y la incertidumbre asociada a los materiales de referencia internos en la cuantificación de los elementos.

La importancia de la investigación radica en que los tres MRI de suelo de los órdenes Inceptisol, Entisol y Vertisol serán de utilidad para el control de calidad en las determinaciones de fósforo, potasio, calcio y magnesio en suelos. También estos materiales resultarían útiles para laboratorios miembros de la RELASE, que tengan problemas de control de calidad en estos parámetros. Además, este trabajo constituye un potencial punto de partida para realizar otros materiales de referencia en suelos, ya que en el país no existe un laboratorio u organismo que los desarrolle. Por otra parte, los análisis de los elementos disponibles en suelos se realizan con dos fines de investigación en nutrición de la caña de azúcar, cuyos resultados sirven directamente en la generación de nuevas tecnologías de fertilización que serán aplicadas en los cultivos comerciales; y, con fines de fertilización en lotes o canteros de los Ingenios San Carlos, Coazucar y Valdez; así como de cañicultores. A partir de estos resultados se determina la disponibilidad de los elementos para la aplicación de fertilizantes. De aquí la relevancia de contar con métodos de análisis precisos y exactos, de no ser así, se debería recurrir a tecnologías o recomendaciones de fertilización poco técnicas; y, en el segundo caso se producirán pérdidas económicas, sea por la aplicación innecesaria de fertilizantes o por dosis insuficientes, lo que incide en la disminución de la producción y/o productividad en el cultivo.

## II. METODOLOGÍA

### Muestreo, preparación y codificación de los suelos

Se limpió la superficie de muestreo y tomaron tres muestras de 30 kg de suelo a una profundidad de 0 a 20 cm en tres lotes de los ingenios San Carlos (coordenadas -2.1928737,-79.8825248), Valdez (coordenadas -2.1556553,-79.8948512) y Coazucar (coordenadas -2.494467,-79.563914), de los órdenes de suelos Inceptisol, Entisol y Vertisol, que son suelos cañeros representativos de la cuenca baja del río Guayas [5]. La Fig.1 muestra la ubicación geográfica de los puntos de muestreo en cada Ingenio, con el orden de suelo en cada lote y su codificación como Materiales de Referencia Interno MRI 1, MRI 2 y MRI 3, respectivamente.

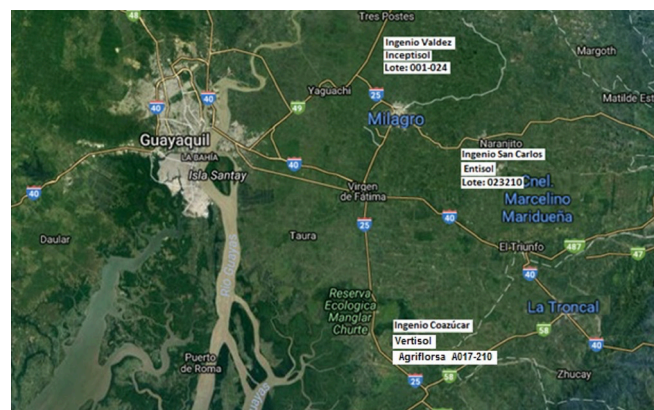


Fig.1. Sitios de toma de muestras de suelos

Las muestras se colocaron en bandejas de acero inoxidable, se secaron en una estufa (TECNAL TE-394/3) a 60 °C por cinco días [6], se molieron en un triturador de mandíbulas (FRITSCH PULVERISETTE) y se pasó por un tamiz de 500 µm. Luego, se mezclaron con una pala por 20 minutos aproximadamente, sobre una superficie de plástico. Posteriormente se colocaron hasta la mitad de un tanque plástico de 110 litros de capacidad, se tomó una muestra que se consideró como tiempo cero, se tapó el tanque, se mezcló rodándolo por 2 horas y se tomó otra muestra. Este procedimiento se repitió dos veces tomando muestras a las 4 y 6 horas. Las matrices de suelo mezcladas se almacenaron en tanques plásticos con tapa hermética. Las tres muestras de cada orden se dividieron en 100 submuestras de 300 g, se colocaron en cajas de cartón plastificadas. Las pruebas de homogeneidad se realizaron con estas muestras previamente secas (60 °C durante 24 horas).

### Extracción de los macroelementos de estudio: fósforo, potasio, calcio y magnesio con solución de Olsen modificado

La extracción se realizó colocando 2,5 g de muestras secas y homogéneas con 25 ml de la solución Olsen Modificado, en frascos de polipropileno con tapa rosca, se agitó durante 10 minutos en un agitador mecánico de vaivén (Eberbach, N° 6000) a 180 cpm, se filtró con papel filtro cuantitativo libre de cenizas [7]. Sobre el extracto se cuantificaron los macroelementos Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio.



La cuantificación de fósforo se realizó por espectrofotometría, utilizando molibdato de amonio para el desarrollo de color y las especificaciones descritas en la Tabla 1, la preparación de las soluciones A y B y las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV/VIS (Perkin Elmer Lambda 25) a 680 nm. El método utilizado para la cuantificación de los elementos potasio, calcio y magnesio fue por espectrofotometría de absorción atómica por el método de llama, cuyas condiciones de operación del equipo se describen en la Tabla 1. La preparación de la muestra se realizó añadiendo una solución de óxido de lantano que evitó las interferencias entre el calcio y el magnesio [1].

**Tabla 1.** Parámetros de operación del espectrofotómetro de absorción atómica y ultravioleta visible [1]

Elemento	Slit (nm)	Longitud de onda ( $\lambda$ ) (nm)
K <sup>(1)</sup>	0,7	766,5
Ca <sup>(1)</sup>	0,7	422,7
Mg <sup>(1)</sup>	0,7	285,2
P <sup>(2)</sup>	0,7	680,0

Espectrofotometría de (1) Absorción atómica y (2) Ultravioleta Visible.

## Diseño Experimental

### Tiempo de mezclado del MRI

Sobre cada muestra de los tres órdenes de suelos en estudio: Inceptisol (MRI 1), Entisol (MRI 2) y Vertisol (MRI 3) se determinaron los macroelementos indicados anteriormente. Las muestras se dividieron en: muestras tomadas sin mezclar, a las dos, cuatro y seis horas de mezclado, realizándose 10 repeticiones para cada muestra. Los resultados fueron analizados por el test de Grubbs para rechazo de datos anómalos comparados con los valores críticos de G ( $P=0.05$ ) en un contraste de dos colas [8]. Se calculó el promedio y coeficiente de variación para cada parámetro en cada uno de los materiales. Por cada elemento se aceptó un coeficiente de variación como máximo del 6 %, que se propone como aceptable para muestras de suelos [9].

### Homogeneidad del MRI

De las 100 submuestras de suelos obtenidas para cada orden se seleccionaron 14 muestras aleatorias para evaluar la homogeneidad [10,11]

sobre las que se determinaron los contenidos disponibles de los macroelementos de estudio. Se realizaron seis repeticiones en días diferentes. El análisis estadístico de homogeneidad se realizó con un ANOVA aplicando el test de la C de Cochran en el programa estadístico XLSTAT.

### Estabilidad del MRI

Se realizó el análisis de los macroelementos de estudio en las mismas 14 submuestras tomadas y analizadas para homogeneidad de cada MRI después de seis meses. Se utilizó el test de Grubbs comparados con los valores críticos de G ( $P=0,05$ ) en un contraste de dos colas para la eliminar datos anómalos. Para la determinación de diferencias significativas en la estabilidad se utilizó una prueba de t student en un nivel de significancia de (0,05).

### Determinación de los valores asignados para los MRI con intercomparación de la RELASE

Se tomaron 20 g de las 14 submuestras sorteadas para cada orden de suelo, se mezclaron a 180 oscilaciones por minuto por una hora[12]. Se pesaron 25 g, se colocaron en bolsas plásticas estériles con cierre hermético y se enviaron a siete laboratorios pertenecientes a la RELASE incluido el laboratorio de CINCAE, para los análisis de los macroelementos de estudio con cinco repeticiones. Los laboratorios enviaron los resultados y fueron procesados estadísticamente determinando su normalidad en cada parámetro, se rechazó los datos discrepantes, se calcularon los promedios, coeficiente de variación y z-score [13].

### Estimación de la precisión, exactitud y recuperación de los métodos de análisis de los macroelementos de estudio

Con los resultados de análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de las 14 submuestras en los tres MRI utilizadas en la determinación de homogeneidad, se estimó la precisión utilizando los estadísticos desviación estándar y coeficiente de variación. La exactitud de los resultados se estimó utilizando como valor experimental el promedio de las 84 repeticiones realizadas en CINCAE y el valor real fue el promedio de la RELASE. La recuperación se estimó como la relación en porcentaje entre los resultados obtenidos por el laboratorio (promedios de

las pruebas de homogeneidad) con los valores asignados o verdaderos.

### Estimación de la incertidumbre y límites de confianza para las determinaciones de los macroelementos de estudio en los tres MRI

El promedio de cada parámetro en estudio en los tres MRI se estimó como el promedio de los resultados de las 14 submuestras analizadas en seis días diferentes. Mientras que la incertidumbre de los materiales de referencia internos se obtuvo de la suma de las fuentes de incertidumbre que tiene el método de análisis y de la muestra, considerándose: la curva de calibración, la reproducibilidad del método, de los equipos y estándares. Las incertidumbres parciales se obtuvieron de la siguiente forma: la calibración se obtuvo de repeticiones de cinco días de los estándares que se usan para preparar la curva de calibración y utilizando el criterio de mínimos cuadrados, para la determinación de la reproducibilidad con los resultados de las 14 muestras en seis días diferentes y las de los equipos y estándares de los certificados de calibración. Se determinaron los intervalos de confianza y dentro de éstos, los límites de confianza con una probabilidad del 95 %, para lo cual se usó  $z = 1,96$ .

## II. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Homogeneidad del MRI

La Tabla 2 muestra el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los análisis de las 14 submuestras tomadas de cada lote de 100 submuestras para cada uno de los tres materiales de referencia interno, con los resultados de las determinaciones del fósforo, potasio, calcio y magnesio extraídos con Olsen Modificado. Los coeficientes de variación (CV) en potasio mostraron una mayor variabilidad en los tres materiales de referencia y evidenciaron la tendencia que al disminuir la concentración del analito aumentó el CV. Los tres materiales fueron muy similares con respecto a los CV para el fósforo entre 4,7 a 4,9 %, el calcio entre 3,4 a 4,0 % y el magnesio entre 4,4 a 4,6 %, que se encontraron dentro de lo que la RELASE tiene como referencia, menor al 6 %.

**Tabla 2.** Promedios, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) del análisis de P, K, Ca y Mg de 14 submuestras tomadas para homogeneidad de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3.

Elementos	Unidades	MR1			MR2			MR3		
		Media	DS	CV	Media	DS	CV	Media	DS	CV
P	ppm	12,070	0,580	4,8	30,980	1,440	4,7	5,590	0,280	4,9
K	meq.100g <sup>-1</sup>	0,380	0,009	2,4	0,184	0,012	6,4	0,275	0,015	5,5
Ca		17,890	0,720	4,0	15,180	0,600	3,9	10,580	0,360	3,4
Mg		6,260	0,280	4,5	4,250	0,190	4,4	3,580	0,160	4,6

Del análisis estadístico para la C de Cochran con el 95 % de probabilidad para los MRI 1, MRI2 y MRI 3 de 14 submuestras con seis repeticiones, se observa en la Tabla 3, que no existieron diferencias significativas (C Valor observado en los cuatro elementos son menores al C Valor crítico), excepto el Mg en el MRI 2, de las 14 submuestras por cada material de referencia interno, lo que indicó que los materiales fueron homogéneos y que los métodos de análisis estuvieron estandarizados y controlados.

**Tabla 3.** Resultados de test C Cochran (95 % probabilidad) en la determinación de homogeneidad de tres materiales de referencia internos en los parámetros P, K, Ca y Mg.

Materiales de Referencia Internos	P	K	Ca	Mg
	C (valor observado)			
MRI 1	0,152	0,205	0,035	0,065
MRI 2	0,188	0,143	0,202	0,246
MRI 3	0,217	0,172	0,163	0,078
C (Valor crítico)	0,232			

Las 14 submuestras en los cuatro parámetros analizados fósforo, potasio, calcio y magnesio fueron homogéneas como se puede observar en la Fig. 2 para en MRI 1, el fósforo con una media general de 12,07 ppm, la sub muestra de menor promedio fue de 11,82 ppm y la mayor de 12,30 ppm; en el potasio con una media general de 0,380 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra con menor promedio fue de 0,370 meq.100g<sup>-1</sup> y el promedio mayor de 0,385 meq.100g<sup>-1</sup>; en el calcio con una media general de 17,89 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio fue de 17,24 meq.100g<sup>-1</sup> y la de mayor de 18,49 meq.100g<sup>-1</sup>; y en magnesio con una media general de 6,26 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio fue de 6,04 meq.100g<sup>-1</sup> y el mayor de 6,56 meq.100g<sup>-1</sup>.

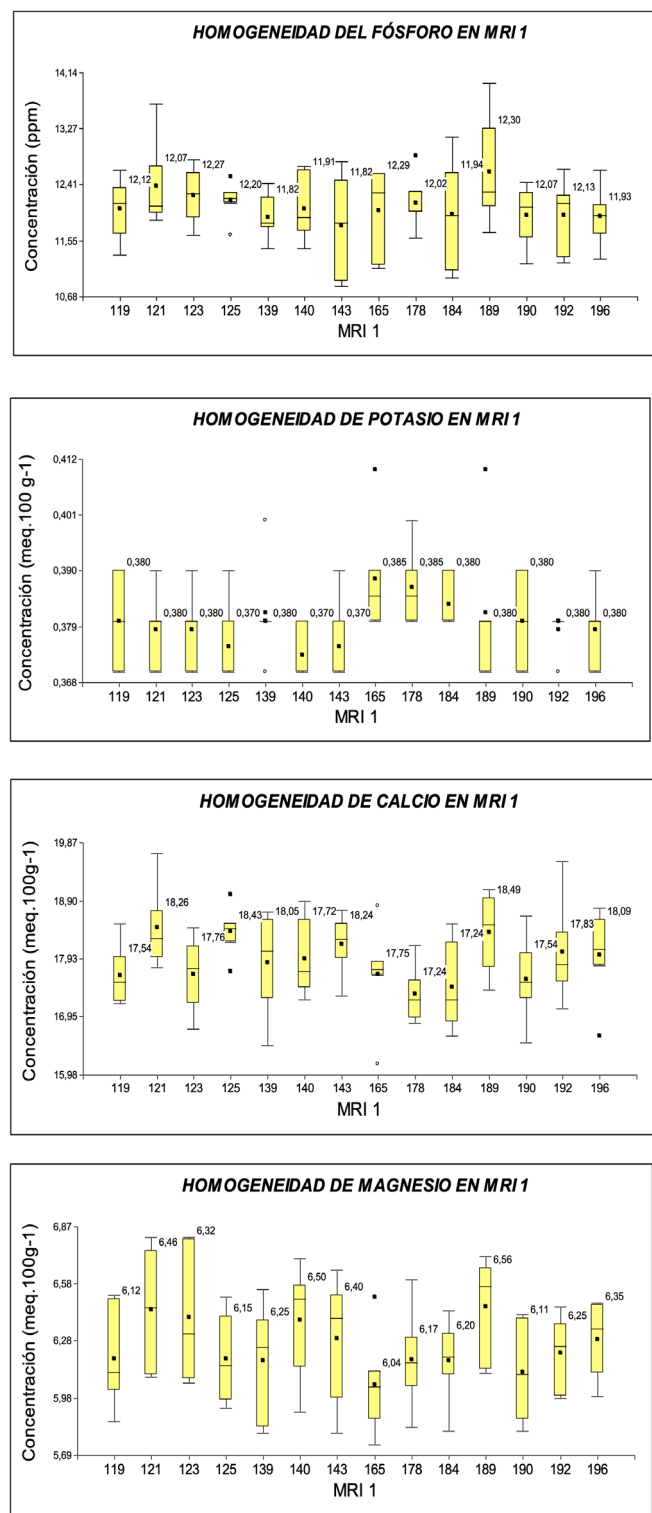
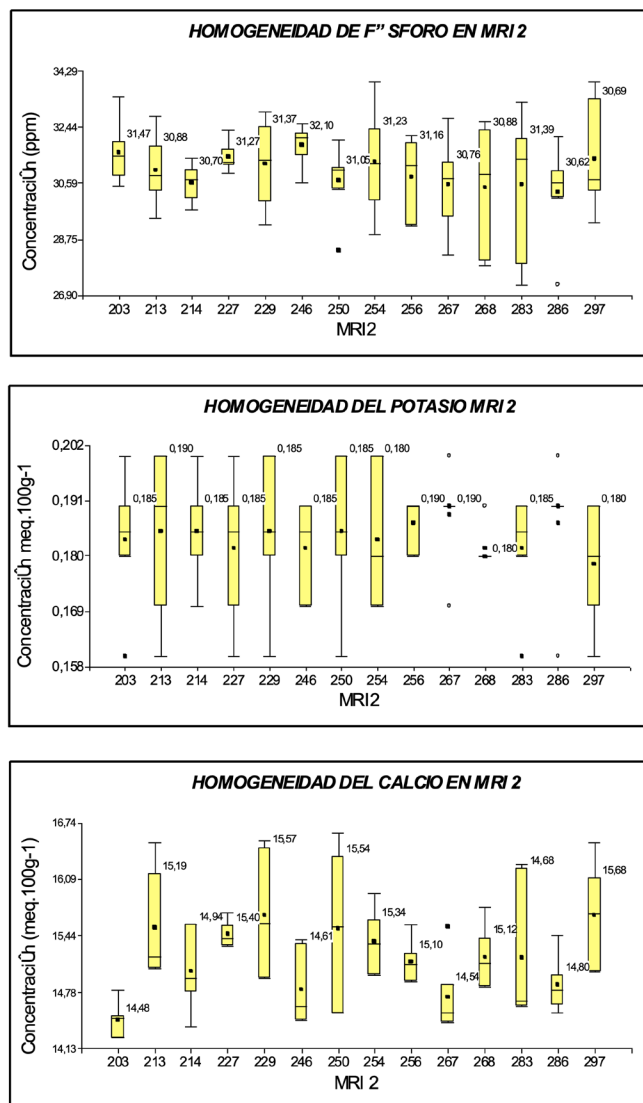
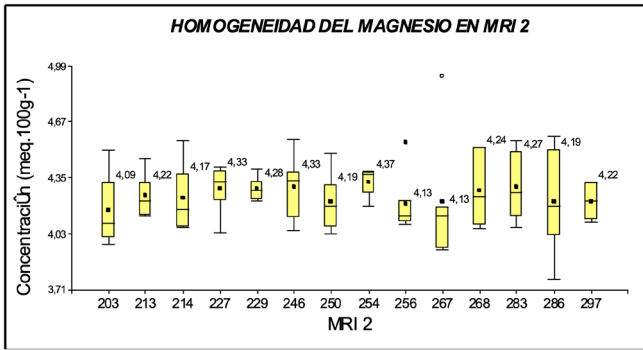


Fig. 2. Gráfico de cajas del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 sub muestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 1.

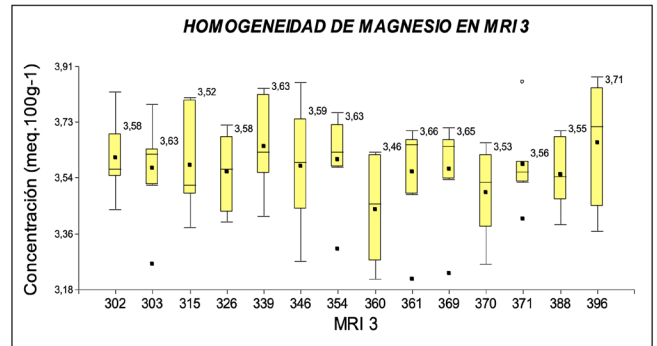
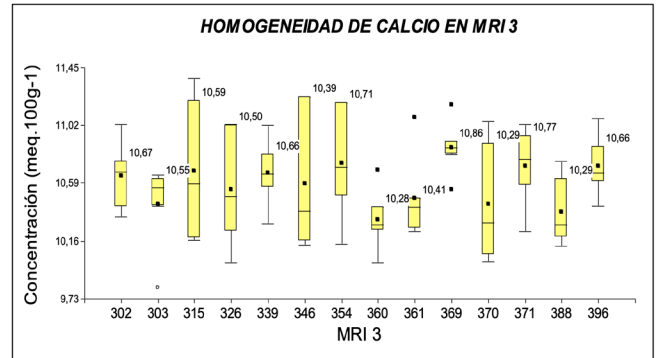
La Fig. 3 exhibe que para el MRI 2, el fósforo presentó una concentración promedio general de 30,98 ppm, la sub muestra de menor promedio fue de 30,62 ppm y la mayor 32,10 ppm; en el potasio con promedio general de 0,184 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra con menor promedio fue de 0,180 meq.100g<sup>-1</sup>, mientras que el promedio mayor fue de 0,190 meq.100g<sup>-1</sup>; el calcio con promedio general de 15,18 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio de 14,48 meq.100g<sup>-1</sup> y la mayor de 15,68 meq.100g<sup>-1</sup>; y en magnesio con una media general de 4,25 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio fue de 4,09 meq.100g<sup>-1</sup> y el mayor de 4,37 meq.100g<sup>-1</sup>.





**Fig. 3.** Gráfico de cajas del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 submuestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 2.

En la Fig. 4 para el MRI 3, al realizar el análisis de los promedios de las 14 submuestras y el promedio general de los resultados de homogeneidad, para el fósforo resultó un promedio general de 5,59 ppm siendo la sub muestra de menor promedio de 5,38 ppm y la mayor de 5,74 ppm; en el potasio el promedio general fue de 0,275 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra con menor promedio fue de 0,260 meq.100g<sup>-1</sup>, mientras que el promedio mayor de 0,280 meq.100g<sup>-1</sup>; el calcio con promedio general de 10,58 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio fue de 10,28 meq.100g<sup>-1</sup> y la de mayor de 10,86 meq.100g<sup>-1</sup>; y en magnesio con una media general de 4,25 meq.100g<sup>-1</sup>, la sub muestra de menor promedio fue de 4,09 meq.100g<sup>-1</sup> y el mayor de 4,37 meq.100g<sup>-1</sup>.

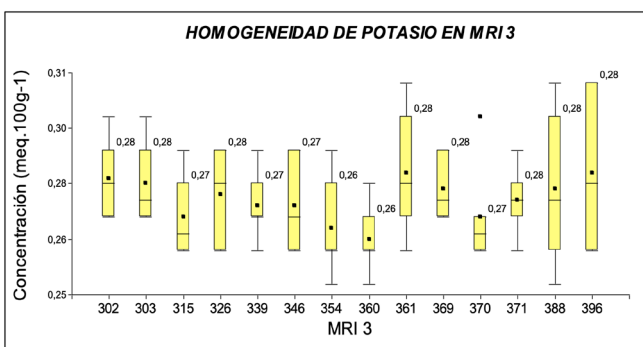
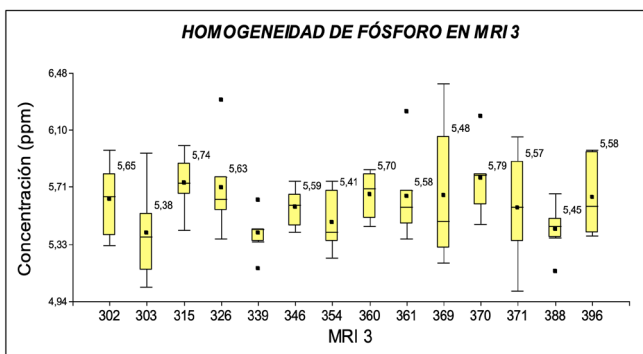


**Fig. 4.** Gráfico de cajas del análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio de 14 submuestras tomadas para determinación de homogeneidad del MRI 3.

La evaluación de los promedios y los gráficos indicaron que los resultados de las submuestras se encontraron distribuidas normalmente, así se evidenció que las muestras y los resultados obtenidos fueron homogéneos.

### Estabilidad del MRI

En la Tabla 4 se presentan los resultados del rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para los resultados de los análisis en fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado de los materiales MRI 1, MRI 2 y MRI 3 de las mismas 14 submuestras tomadas para la determinación de homogeneidad, pero luego de seis meses de haberse mantenido en las condiciones de laboratorio. En el MRI 1 se eliminó el valor alto de fósforo y el valor bajo de calcio, en el MRI 2 se eliminaron los valores altos de potasio y calcio, mientras que en el MRI 3 no se eliminó ningún dato.



**Tabla 4.** Rechazo de datos anómalos aplicando el test de Grubbs para 14 datos ( $G_{crit}$  2.37) en el análisis de P, K, Ca y Mg en muestras del MRI 1, MRI 2 y MRI 3 analizadas para estabilidad a los seis meses.

Elemento	Unidades	MRI 1		MRI 2		MRI 3	
		$G_{exp.}$	V.S.	$G_{exp.}$	V.S.	$G_{exp.}$	V.S.
P	ppm	0.85	11.83	1.33	30.20	1.68	5.30
		3.13	13.69*	1.64	32.53	1.50	5.83
K	meq.100g <sup>-1</sup>	1.41	0.37	1.16	0.17	1.57	0.26
		1.97	0.39	2.54	0.23*	1.36	0.29
Ca	meq.100g <sup>-1</sup>	2.42	16.62*	1.48	14.95	1.32	10.47
		1.57	18.40	2.33	15.97*	1.61	10.98
Mg	meq.100g <sup>-1</sup>	1.87	6.17	1.87	4.15	2.09	3.46
		1.42	6.41	1.42	4.39	2.09	3.65

$G_{exp.}$ : Valor calculado de Grubbs con el menor y mayor valor respectivamente; V.S.: Valor sospechoso y \*: Valor rechazado

Se determinó la media, desviación estándar y coeficiente de variación que se pueden observar en la Tabla 5, pudiendo determinar que el CV cumplió en la mayoría de los materiales y elementos la condición de RELASE de ser menor a 6,0 %, excepto en el MRI 2 para el caso del análisis del potasio que se obtuvo el 6,0 %. Cabe señalar, que en la determinación de homogeneidad en este mismo material y elemento se encontró un CV del 6,4%; lo que indica que es el elemento que presenta en esta matriz mayores variaciones en los resultados.

**Tabla 5.** Determinación de los estadísticos media, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) en la estabilidad a los seis meses de los tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3

Estadístico	MR1				MR2				MR3			
	P	K	Ca	Mg	P	K	Ca	Mg	P	K	Ca	Mg
Media	12,11	0,38	17,70	6,31	31,24	0,19	15,35	4,29	5,58	0,28	10,70	3,59
DS	0,21	0,01	0,45	0,07	0,78	0,01	0,27	0,07	0,17	0,01	0,17	0,05
CV	1,7	1,4	2,5	1,2	2,5	6,0	1,7	1,7	3,0	2,7	1,6	1,3

Finalmente con los resultados obtenidos se aplicó el estadístico t con el cual se evaluó la media de los resultados con un valor conocido o tomado como verdadero, para lo cual se tomó el promedio de homogeneidad, obteniéndose que no existieron diferencias significativas en los tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3 en los cuatro elementos analizados

fósforo, potasio, calcio y magnesio luego de seis meses como se muestra en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Aplicación del estadístico t ( $t_{tab}$  2.18) en la comparación de la media de 14 datos y el valor asignado como verdadero en la determinación de estabilidad de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3.

Elemento	t-Student		
	MRI 1	MRI 2	MRI 3
P	0,66	1,06	0,19
K	2,01	2,03	1,78
Ca	1,35	1,97	2,17
Mg	2,01	1,58	1,74

### Determinación de los valores asignados para los MRI con intercomparación de la RELASE

La coordinación de la RELASE recibió los resultados de los laboratorios, incluido los de CINCAE, después de realizar el tratamiento estadístico respectivo emitió el informe en el que se presentó los promedios, desviación estándar y coeficientes de variación. El promedio de todos los laboratorios de cada uno de los parámetros analizados en cada MRI representó el valor asignado, mientras que el coeficiente de variación permitió determinar la normalidad de los análisis. Un resumen se muestra en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Promedios, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) de los análisis de fósforo, potasio, calcio y magnesio con extractante Olsen Modificado de los tres MRI realizados en un ensayo interlaboratorios de la RELASE

Materiales de Referencia Internos	Estadísticos	P	K	Ca	Mg
		ppm	meq.100g <sup>-1</sup>	meq.100g <sup>-1</sup>	meq.100g <sup>-1</sup>
MRI 1	Media	12,11	0,38	17,70	6,31
	DS	0,21	0,01	0,45	0,07
	CV	1,7	1,4	2,5	1,2
MRI 2	Media	32,93	0,18	14,65	4,19
	DS	5,73	0,02	0,68	0,21
	CV	17,41	8,88	4,65	5,10
MRI 3	Media	4,97	0,25	11,13	3,49
	DS	0,76	0,03	0,80	0,23
	CV	15,23	12,98	7,15	6,46

### Cálculo de la precisión, exactitud y recuperación de los métodos de análisis de Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio en Suelos con el extractante Olsen Modificado

Los resultados del análisis de las 14 submuestras para los macroelementos analizados en los



tres MRI utilizados para homogeneidad se utilizaron para la determinación del coeficiente de variación como se puede observar en la Tabla 8. Los coeficientes de variación para el fósforo en los tres materiales de referencia internos estuvieron alrededor del 5,0%, entre 2,4% a 6,4 % para potasio siendo el menor para la concentración más baja y el mayor para la más alta. El calcio tuvo valores de CV entre 3,4 % y 4,0 % para los tres materiales de referencia, las magnitudes son altas en las tres muestras. Asimismo, el CV para magnesio fue de 4,4% a 4,6% en los tres MRI, también con contenidos altos de magnesio en la matriz.

Con los resultados de los promedios de los macroelementos analizados en el Laboratorio Químico de CINCAE reportados en la Tabla 2 y los promedios en los mismos parámetros de la RELASE presentados en la Tabla 7, se estimó la exactitud del Laboratorio, tomando como error de la medida o el porcentaje de recuperación como se observa en la Tabla 8. Las recuperaciones del fósforo mostraron que a menor concentración de analito se tiene un mayor porcentaje de recuperación, para el MRI 3 con una media de 5,59 ppm de fósforo un porcentaje de recuperación de 112,5 %; mientras que, para el contenido alto 30,98 ppm MRI 2 el porcentaje de recuperación es el menor 94,1 %. El potasio exhibió la mayor recuperación 110,1 % en el contenido medio 0,28 meq.100g<sup>-1</sup> de los tres materiales MRI 3 y la menor recuperación 102,1 % en el contenido bajo 0,18 meq.100g<sup>-1</sup> MRI 2. El calcio mostró la tendencia de una mayor concentración de analito donde se observa un mayor porcentaje de recuperación; en contraste, el magnesio evidenció una mayor concentración de analito con un menor porcentaje de recuperación. Sin embargo, hay que mencionar que los porcentajes de recuperación se encuentran en el rango 99,8 a 102,5 % para el Mg. El error solo en el caso del fósforo sobrepasó el 10 % en el MRI 3, obteniendo 11,1 % y en la misma muestra el caso del potasio fue 9,2 %, para los otros elementos y muestras oscilaron alrededor del 5 %, llegando hasta 0,2 % en el magnesio para el MRI 1.

**Tabla 8.** Porcentajes de recuperación (Rec.) y error de los resultados de fósforo, potasio, calcio y magnesio del laboratorio Químico con relación a los resultados de un interlaboratorio de la RELASE

MATRICES	P		K		Ca		Mg	
	%							
	Rec.	Error	Rec.	Error	Rec.	Error	Rec.	Error
<b>MRI 1</b>	105,7	5,4	105,5	5,2	104,6	4,4	99,8	0,2
<b>MRI 1</b>	94,1	6,3	102,1	2,1	103,6	3,5	101,4	1,4
<b>MRI 1</b>	112,1	11,1	110,1	9,2	95,1	5,2	102,5	2,4

### **Cálculo de las incertidumbres y límites de confianza para las determinaciones de Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio con el extractante Olsen Modificado en los MRI 1, MRI 2 y MRI 3**

Para cada uno de los elementos se determinaron las fuentes de incertidumbre, siendo de forma general la asociada con la precisión del método evaluada con los estándares y la curva de calibración, la reproducibilidad que se determinó con un análisis de 14 submuestras realizadas en seis días diferentes para cada MRI, de los estándares y de los equipos que intervinieron en las diferentes etapas del análisis. Como resultado, se obtuvieron las incertidumbres asociadas al método que se muestran en la Tabla 9.

La incertidumbre relacionada con el promedio y presentada en porcentaje muestra para los macroelementos de estudio mostró que, a menor valor en magnitud del analito, mayor fue la incertidumbre. Por ejemplo, el fósforo en el MRI 3 tuvo un valor de 5,59 ppm con un porcentaje de incertidumbre de 10,4 %, en el MRI 2 con un valor de 12,07 ppm de 8,3 % y para el MRI 3 con un valor de 30,98 ppm de 7,2 %. Para el magnesio se observó una discrepancia entre el valor medio 4,25 meq.100g<sup>-1</sup> y alto de 6,26 meq.100g<sup>-1</sup> cuyas incertidumbres son 6,4 % y 7,3 %. Las incertidumbres porcentuales se encontraron entre 3,4 % hasta 11,9 % y la mayoría presentaron valores menores a 10 %, lo cual indicó que se encontraron entre valores aceptables considerando la naturaleza heterogénea de los suelos.

En la Tabla 9 se presentan otras medidas de dispersión como la desviación estándar, el coeficiente de variación y los límites de confianza al 95 % de probabilidad, que serán útiles para el Laboratorio Químico de CINCAE en el control de sus análisis.

**Tabla 9.** Promedio, incertidumbre expandida, desviación estándar (DS), coeficiente de variación (CV) y límite de confianza de los MRI 1, MRI 2 y MRI 3 en la cuantificación con Olsen Modificado de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio

Material	Elemento	Media	u Expandida ( $\pm$ )	% u	95% (límite de confianza)	
MRI 1	P	12.07	1.00	8.3	11.95	12.20
MRI 2		30.98	2.40	7.2	30.67	31.29
MRI 3		5.59	0.58	10.4	5.53	5.65
MRI 1	K	0.38	0.01	3.4	0.378	0.382
MRI 2		0.18	0.02	11.9	0.181	0.186
MRI 3		0.28	0.03	9.4	0.272	0.278
MRI 1	Ca	17.89	0.98	5.5	17.74	18.05
MRI 2		15.18	0.87	5.8	15.06	15.31
MRI 3		10.58	1.00	9.4	10.51	10.66
MRI 1	Mg	6.26	0.46	7.3	6.20	6.32
MRI 2		4.25	0.27	6.4	4.21	4.29
MRI 3		3.58	0.28	7.8	3.54	3.61

#### IV. CONCLUSIONES

En conclusión, se obtuvieron tres materiales de referencia interno MRI 1, MRI 2 y MRI 3, en matrices de suelos del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol con su respectiva concentración asignada de los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio utilizando el extractante Olsen Modificado.

Los tres materiales de referencia internos en los macroelementos analizados fueron homogéneos basado en el test de Cochran realizado a las 14 submuestras con seis repeticiones. Los tres materiales MRI 1, MRI 2 y MRI 3 no mostraron diferencias significativas para los cuatro elementos analizados fósforo, potasio, calcio y magnesio luego de seis meses de haber realizado las pruebas de homogeneidad, utilizando el estadístico t para 14 datos en el que se evaluó si existen diferencias con los resultados obtenidos en las pruebas de homogeneidad. Los coeficientes de variación de los análisis y resultados de 84 repeticiones para cada MRI permitieron concluir que se tiene una buena precisión; ya

que, en los tres materiales presentan valores menores al 5 % de CV, solo para el potasio en el MRI 2 fue de 6,3 %.

Los resultados de un ensayo interlaboratorios permitieron determinar la exactitud, al no disponer de un MRCs en suelos los parámetros de estudio, se los utilizaron para estimar el valor asignado. Los resultados del Laboratorio Químico tienen una buena exactitud pues presentan errores alrededor del 5 % en los cuatro elementos analizados en el MRI 1 y MRI 2; y, en el calcio y magnesio del MRI 3, solo el fósforo y potasio presentan errores superiores de 11,1% y 9,2%. Consistentemente, los porcentajes de recuperación muestran valores entre 90 a 110 % en todos los elementos analizados en los materiales MRI 1 y MRI 2; y, en calcio y magnesio de MRI 3, solo el fósforo con 112,5 % y potasio con 110,1 % de recuperación superarían estos rangos que son comúnmente utilizados en este tipo de trabajos.

Con los análisis de los resultados y haciendo uso de las herramientas estadísticas se puede concluir que se obtuvieron tres materiales de referencia internos MRI 1, MRI 2 y MRI 3, en la matriz suelos, en los elementos fósforo, potasio, calcio y magnesio extraídos con Olsen Modificado y analizados por espectrofotometría UV/VIS para el fósforo y espectrofotometría de absorción atómica para el potasio, calcio y magnesio, los cuales se presentan con un promedio, una incertidumbre expandida y los límites de confianza para un 95% de probabilidad. En próximos trabajos en la obtención de materiales de referencia internos para suelos es recomendable en la preparación de la muestra utilizar otras técnicas más eficientes como los molinos de bolas que permitirá mejorar la homogeneidad de la muestra, lo cual permitirá disminuir la dispersión de resultados. Los mismos materiales podrían utilizarse en la determinación de los microelementos zinc, cobre, hierro y manganeso con el extractante Olsen Modificado, al usar estos MRI se evitaría la parte de la recolección y preparación de la muestra. Estos materiales pueden ser utilizados en el control de calidad de los análisis de suelos, incluyéndolos en cada lote de muestra y evaluar si se encuentran dentro de los intervalos de confianza, con lo cual se

aceptarían los resultados del lote.

## REFERENCIAS

- [1] B. Aucatoma (2017) "Elaboración y caracterización de un material de referencia interno de suelos para los macro elementos P, K, Ca y Mg extraídos con Olsen Modificado para análisis en suelos cañeros del orden Inceptisol, Entisol y Vertisol de la cuenca baja del río Guayas", Tesis de M.Sc., Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- [2] G. Carrera, B. Aucatoma (2010) "Informe tercera intercomparación de análisis de suelos y foliares del Ecuador in Décimo Segundo Congr", Ciencia de Suelos Ecuador, Santo Domingo Tsáchilas, Ecuador.
- [3] BIPM/IEC/IFF/ILAC/ISO/IUPAP/OIM, (2009), "Vocabulario internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)", 3° Edición, Francia, JCGM 2012.
- [4] IISO/IEC 17025:2005 (2005) "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración", 2° Edición, Suiza.
- [5] M. Salazar, M. Suárez, R. Castillo (2017) "Guía para el muestreo de suelos y foliares en caña de azúcar", Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador, El Triunfo, Ecuador.
- [6] P. Wu, X. Wu, H. Xu, G. Owens, (2021) "Interfacial solar evaporation driven lead removal from a contaminated soil", *EcoMat*, 3 (5), e12140.
- [7] E. M. Gonzalez Sarango, S. Leimer, C. Valarezo Manosalvas, W. Wilcke (2022) "Does biochar improve nutrient availability in Ultisols of tree plantations in the Ecuadorian Amazonia?", *Soil Sci. Soc. Am. J.* 86(4), 1072-1085.
- [8] J.N. Miller, J.C. Miller (2002) "Estadística y quimiometría para química analítica", 4 ° Edición, Madrid, Pearson Educación, pp. 43-72.
- [9] Red de Laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador (2012) "Sexto ejercicio de Intercomparación organizado por la Red de Laboratorios de Análisis de Suelos del Ecuador", Marcelino Maridueña, Ecuador.
- [10] Comisión Europea (1994) "Guidelines for the production and certification of BCR reference materials", Geneva.
- [11] P. Lichtenberg (2006) "Preparación de un material de referencia certificado para la determinación de mercurio en músculo de pez alfonsino (*Beryx splendens* L1834)", Tesis de Ing., Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- [12] Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (2016) "Procedimiento de laboratorio específico de ensayo de homogeneización de muestras sólidas GT.CINCAE.PEEHMS.01", Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.
- [13] A. Jaramillo (2017) "Informe interlaboratorio", Agrocalidad, Quito, Ecuador.