

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE:**

MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA

TEMA:

**ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN NANOFERTILIZANTE UREA-
HIDROXIAPATITA PARA REDUCIR APLICACIONES DE NITRÓGENO EN
CULTIVOS AGRÍCOLAS**

Autor:

TANYA PAOLA GUILLEN PALMA

Director:

TROCCOLI GHINAGLIA LUIS ERNESTO, PHD

Milagro, 2022

Derechos de autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejo

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Tanya Paola Guillen Palma** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Química Aplicada**, como aporte a la Línea de Investigación **Desarrollo Productivo** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 09 de noviembre del 2022



Firmado electrónicamente por:
**TANYA PAOLA
GUILLEN**

Tanya Paola Guillen Palma

C.I.: 0924716137

Aprobación del Director del Trabajo de Titulación

Yo, **Luis Ernesto Troccoli Ghinaglia** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por **Tanya Paola Guillen Palma**, cuyo tema es **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN NANOFERTILIZANTE UREA-HIDROXIAPATITA PARA REDUCIR APLICACIONES DE NITRÓGENO EN CULTIVOS AGRÍCOLAS**, que aporta a la Línea de Investigación **Desarrollo Productivo**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Química Aplicada**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 09 de noviembre de 2022



Firmado electrónicamente por:
**LUIS ERNESTO
TROCCOLI
GHINAGLIA**

Luis Ernesto Troccoli Ghinaglia

C.I.: 0962410494

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
DIRECCIÓN DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA**, presentado por **ING. GUILLEN PALMA TANYA PAOLA**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN NANOFERTILIZANTE UREA-HIDROXIAPATITA PARA REDUCIR APLICACIONES DE NITRÓGENO EN CULTIVOS AGRÍCOLAS", las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	59.67
DEFENSA ORAL	40.00
PROMEDIO	99.67
EQUIVALENTE	Excelente



Firmado electrónicamente por:
DELIA DOLORES
NORIEGA VERDUGO

Mgtr. NORIEGA VERDUGO DELIA DOLORES
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Firmado electrónicamente por:
JUAN DIEGO
VALENZUELA
COBOS

Ph.D. VALENZUELA COBOS JUAN DIEGO
VOCAL



Firmado electrónicamente por:
FREDDY ANDRES
ESPINOZA
CARRASCO

Mgs. ESPINOZA CARRASCO FREDDY ANDRES
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



DEDICATORIA

Este nuevo logro lo dedico a mi querida madre, quien ha sido el pilar fundamental a lo largo de mi vida; gracias a su apoyo y trabajo he sido capaz de cumplir las metas que me he propuesto, a mis hermanos y sobrinos; quienes me motivan para seguir adelante, y a mis tíos que siempre están dispuestos a apoyarme cuando lo necesite.



AGRADECIMIENTOS

En todo trabajo de investigación, como lo fue mi tesis de posgrado, se busca cumplir con los objetivos planteados; durante este proceso es necesario contar con una guía y tener los recursos necesarios como los materiales y equipos utilizados. En mi caso, tuve la fortuna de tener el apoyo de dos instituciones y varios amigos, sin los cuales, no hubiera sido capaz de cumplir mis objetivos.

Quiero empezar agradeciendo al Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE); mi lugar de trabajo, que me permitió utilizar sus instalaciones como lo fueron el Laboratorio Químico con su instrumentación y uno de sus invernaderos. En especial a las personas que me supieron apoyar en todo momento cuando los necesite, como lo fueron: el PhD. Raúl Castillo; ex Director General, Dr. Bolívar Aucatoma MSc.; jefe del Laboratorio Químico, PhD. Edison Silva; Director Técnico, Ing. Agrón. Jorge Mendoza MSc.; ex jefe del área de entomología, PhD. Mónica Salazar; ex jefa del área de suelos y fertilizantes, Ing. Agrop. Miguel Suárez MSc.; encargado del área de suelos y fertilizantes y el Ing. Agrón. Ignacio Viteri; encargado del área de semilla sana. Cada uno de ellos me aportó sus conocimientos puntuales durante la etapa experimental.

También quiero extender mi agradecimiento al Laboratorio de Nanoestructuras de la Universidad Central del Ecuador en la Facultad de Ciencias Químicas, en donde me permitieron realizar la etapa de caracterización del material elaborado. En especial al PhD. Pablo Bonilla; jefe del Laboratorio, Quim. Dennys Almachi MSc.; encargado del laboratorio y al PhD. Cristian Alcivar; investigador de la facultad. La colaboración de cada uno de ellos fue excepcional.

Finalmente agradezco inmensamente a mi tutor, PhD. Luis Troccoli Ghinaglia, por su orientación, apoyo y paciencia durante el proceso; y, a sus sugerencias para mejorar mi trabajo final.

Muchas gracias a todos.

Resumen

Los fertilizantes nitrogenados son de los insumos agrícolas más utilizados, el incremento de la población y la demanda de alimentos han aumentado el rendimientos en los cultivos; con ello, las aplicaciones de fertilizantes sin medida y en dosis mayores de lo necesario. El objetivo de esta investigación es reducir la aplicación de N, como urea, utilizando un NF-UR-HAP, elaborado mediante el método de precipitación en medio húmedo con H_3PO_4 e $Ca(OH)_2$; y, caracterizado mediante: DLS, AFM, FTIR, potencial z, AA y Kjeldahl; posteriormente evaluando la efectividad en plantas de caña de azúcar en invernadero, utilizando un DCA aplicando dosis de 25, 50 y 75% menor a la convencional, se cuantificó N, Ca y P en hojas, MS y altura semanal. Se obtuvo el NF-UR-HAP en relación 1:9, concentraciones de: N 38.26%, Ca 3.73% y P 1.67%. El XRD identificó la muestra como HAP, el FTIR mostró una banda en 1030 cm^{-1} , propio del grupo PO_4^{3-} y bandas en el NF-UR-HAP que corresponden a los grupos: PO_4^{3-} , N-C-N, N-H, C=O y NH_2 , sugiriendo la presencia de enlace de hidrógeno, DLS reportó tamaños promedio de 158.7 nm, IP 0.302 y potencial z 18.8 mV, AFM determino tamaños de 107 y 117 nm y el ANOVA mostró que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, concluyendo que el NF-UR-HAP al 25% (30 kg N ha^{-1}), fue suficiente para el desarrollo de las plantas hasta los tres meses. Por ello, esta investigación constituye un aporte para la implementación de la nanotecnología en la producción de fertilizantes para la agricultura de Ecuador.

Palabras claves: AFM, caña de azúcar, DLS, FTIR, nanofertilizantes, nanohidroxiapatita.

Abstract

Nitrogenous fertilizers are one of the most widely used agricultural inputs, and the increase in population and the demand for food has increased crop yields; with this, the applications of fertilizers without measure and in doses greater than necessary. The objective of this research is to reduce the application of Nitrogen as Urea using an NF-UR-HAP, prepared by means of the precipitation method in a humid medium with H_3PO_4 and $Ca(OH)_2$, and characterized by: DLS, AFM, FTIR, z-potential, AA and Kjeldahl; Subsequently, evaluating the effectiveness in greenhouse sugarcane plants, using a DCA applying doses of 25, 50 and 75% lower than the conventional one, N, Ca and P in leaves, DM and weekly height were quantified. NF-UR-HAP was obtained in a 1:9 ratio, concentrations of: N 38.26%, Ca 3.73% and P 1.67%. The XRD identified the sample as HAP, the FTIR showed a band at 1030 cm^{-1} , typical of the PO_4^{3-} group and bands in the NF-UR-HAP that correspond to the groups: PO_4^{3-} , N-C-N, N-H, C=O and NH_2 , suggesting the presence of hydrogen bonding, DLS reported average sizes of 158.7 nm, IP 0.302 and z potential 18.8 mV, AFM determined sizes of 107 and 117 nm and ANOVA showed that there are no significant differences between treatments, concluding that the NF-UR-HAP at 25% (30 kg N ha^{-1}), was sufficient for the development of the plants up to three months. Therefore, this research constitutes a contribution to the implementation of nanotechnology in the production of fertilizers for agriculture in Ecuador.

Keywords: AFM, sugarcane, DLS, FTIR, nanofertilizers, nanohydroxyapatite

Lista de Figuras

Figura 1.	Procesos de transformaciones del nitrógeno en el suelo (Ciclo del nitrógeno). Modificado de Palma & Segat, 2000; Perdomo et al., 2003; Castellanos et al., 2005.	10
Figura 2.	Proceso de elaboración de urea. Modificado de Morales-Morales et al., 2019.	14
Figura 3.	Estructura cristalina de la Hidroxiapatita. Aportado por Valdivieso, 2020.	16
Figura 4.	Diferentes formas de coloides. Aportado por Kulkarni, 2015.	20
Figura 5.	Geometría de dispersión de luz. Aportado por Kulkarni, 2015.	22
Figura 6.	Esquema de un microscopio de fuerza atómica. Aportado por Kulkarni, 2015.....	24
Figura 7.	Esquema del interferómetro de Michelson. Aportado por Kulkarni, 2015.....	24
Figura 8.	(a) Producto en suspensión realizado en el LB-1, (b) Producto en suspensión realizado en el LB-2.	33
Figura 9.	Producto en suspensión antes y después de la centrifugación.	33
Figura 10.	Nanofertilizante urea-hidroxiapatita (UR-HAP).....	34
Figura 11.	Difractograma de rayos X de la muestra HAP sin urea.Tamaño de partícula.....	35
Figura 12.	Distribución de los tamaños de partículas en las muestras: a) UR-HAP-1; b) UR-HAP-2, obtenidos por DLS.	36
Figura 13.	Imagen AFM obtenida de la muestra UR-HAP-1: a) imagen 3D; b) tamaño de grano.	38
Figura 14.	Imagen AFM obtenida de la muestra UR-HAP-2: a) tamaño individual; b) tamaño de grano; y, c) imagen 3D.....	39
Figura 15.	Espectros FTIR de a) NPs HAP, b) urea, c) UR-HAP-1, d) NF-UR-HAP	42
Figura 16.	Valores promedio de altura semanal en las plantas desde la aplicación de los cuatro tratamientos hasta los 90 días de edad, evaluados en caña de azúcar bajo condiciones de invernadero.	46
Figura 17.	Elaboración del nanofertilizante realizado en el Laboratorio de nanoestructuras de la Universidad Central del Ecuador.	59
Figura 18.	Elaboración del nanofertilizante realizado en el Laboratorio Químico de CINCAE....	60
Figura 19.	Selección y tratamiento de la semilla.....	61
Figura 20.	Germinación y trasplante a macetas dentro del invernadero.....	62
Figura 21.	Desarrollo del ensayo en el invernadero	63
Figura 22.	Información técnica de la variedad de caña de azúcar ECU-01, suministrada por CINCAE	64

Lista de Tablas

Cuadro 1. Distribución de las importaciones de urea por empresa, Ecuador- 2015..... 15

Cuadro 2. Tratamientos para ensayo de dosis de nitrógeno utilizando el nanofertilizante elaborado y urea como testigo, en caña de azúcar, variedad ECU-01, en CINCAE. 27

Cuadro 3. Valores medios del tamaño hidrodinámico e IP obtenidos por DLS de la muestra UR-HAP -1 y UR-HAP -2..... 37

Cuadro 4. Potencial Z de las muestras UR-HAP-1 y UR-HAP-2..... 40

Cuadro 5. Contenidos de calcio (Ca), fósforo (P) y nitrógeno (N); y la relación molar Ca/P de las muestras obtenidas en la elaboración del nanofertilizante urea – hidroxiapatita (NF-UR-HAP) 43

Cuadro 6. Prueba de normalidad (Shapiro Wilk) y homocedasticidad (Levene) en los datos obtenidos de N, P, Ca, MS y CREC, evaluados en caña de azúcar bajo condiciones de invernadero.. 43

Cuadro 7. Análisis de varianza y diferencia estadística (método Tukey) de las variables en estudio en los cuatro tratamientos, evaluados en caña de azúcar bajo condiciones de invernadero..... 44

Cuadro 8. Resultados del análisis fisicoquímico del suelo utilizado en el ensayo de invernadero.

Índice / Sumario

Capítulo I: El problema de la investigación.....	3
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Delimitación del problema.....	4
1.3 Planteamiento de la hipótesis.....	5
1.4 Objetivos.....	5
1.4.1 Objetivo General.....	5
1.4.2 Objetivos Específicos.....	5
1.5 Justificación.....	6
Capítulo II: Marco teórico.....	7
2.1 La agricultura.....	7
2.1.1 Revolución verde.....	7
2.1.2 Manejo de la fertilidad del suelo.....	8
2.2 Nitrógeno.....	8
2.2.1 Ciclo del nitrógeno.....	9
2.2.2 Fuentes de nitrógeno y su disponibilidad en los cultivos.....	10
2.2.3 Pérdidas de nitrógeno.....	11
2.2.4 Fertilización nitrogenada en caña de azúcar.....	13
2.3 Urea.....	13
2.3.1 Producción de urea.....	14
2.3.2 Importaciones de urea en Ecuador.....	15
2.4 Hidroxiapatita.....	15
2.4.1 Composición.....	15
2.4.2 Síntesis.....	16
2.4.3 Propiedades.....	18
2.4.4 Aplicaciones.....	18
2.4.5 Nanohidroxiapatita.....	18
2.5 Nanotecnología.....	18
2.5.1 Aplicaciones.....	19
2.5.2 Síntesis de nanomateriales.....	19
2.5.3 Nanofertilizantes.....	20
2.6 Caracterización del nanofertilizante.....	21

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

2.6.1	Difracción de rayos X (XRD).....	21
2.6.2	Dispersión dinámica de luz (DLS)	21
2.6.3	Potencial zeta.....	22
2.6.4	Microscopía de fuerza atómica (AFM)	23
2.6.5	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	24
2.6.6	Método Kjeldahl.....	25
2.6.7	Espectrofotometría de absorción atómica (AA)	25
Capítulo III: Materiales y métodos		26
3.1	Enfoque y tipo de la investigación	26
3.2	Lugares donde se desarrolló la investigación.....	26
3.3	Población de estudio y muestreo	27
3.4	Tratamientos.....	27
3.5	VARIABLES DE ESTUDIO	27
3.6	Metodología	28
3.6.1	Materiales y equipos.....	28
3.6.2	Elaboración del nanofertilizante	28
3.6.3	Caracterización del nanofertilizante	29
3.6.4	Evaluación de la efectividad del nanofertilizante	31
3.7	Análisis estadístico	32
Capítulo IV: Resultados y discusión.....		32
4.1	Elaboración.....	32
4.2	Caracterización del nanofertilizante.....	35
4.2.1	Difracción XRD.....	35
4.2.2	Determinación del tamaño hidrodinámico mediante la técnica DLS	36
4.2.3	Determinación del tamaño de partícula mediante la técnica AFM	38
4.2.4	Potencial zeta.....	40
4.2.5	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	40
4.2.6	Contenido de calcio, fósforo y nitrógeno	42
4.1.2	Evaluación de la efectividad del nanofertilizante	43
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones		47
4.3	Conclusiones	47
4.4	Recomendaciones.....	48
Referencias bibliográficas.....		49
Anexos		58
Cuadros y figuras		58

Introducción

Los cultivos creados por el hombre para la producción de alimentos han aumentado en las últimas décadas, debido al incremento de la población, la cual se proyecta que para el 2050 será de 9700 millones (Andrade, 2016). Los suelos agrícolas, por lo general, no poseen las cantidades suficientes de nutrientes necesarios para el desarrollo y buen rendimiento de las plantas; por esta razón, es imprescindible la aplicación de fertilizantes adecuados, que sean capaces de aportar los requerimientos nutricionales que exigen los cultivos (Saleem et al., 2014).

El nitrógeno (N) es uno de los nutrientes principales que toda planta necesita para crecer en óptimas condiciones. Se considera como el tercer factor en importancia para la producción de alimentos procedentes de la agricultura, después del agua y la temperatura. Por otro lado, aplicaciones de fertilizantes nitrogenados en exceso, junto con malas prácticas agrícolas, generan pérdidas considerables de nitrógeno (Morales-Morales et al., 2019; Yang et al., 2020). Varios estudios consideran que podría llegar a perderse entre el 40 a 70% del nitrógeno presente en el fertilizante (Panpatte & Jhala, 2019).

La falta de respuesta de los cultivos a la fertilización nitrogenada se debe a factores como: momento y forma de aplicación, tipo de fertilizante, la disponibilidad inicial presente naturalmente en el suelo y la humedad. Las pérdidas más grandes de nitrógeno son a causa de la desnitrificación (transformación del nitrato (NO_3^-) a óxido nitroso (N_2O) y óxido nítrico (NO)), la volatilización (evaporación del amoníaco NH_3 de la solución del suelo) y la lixiviación (filtración del NO_3^- hacia el subsuelo por flujos de agua, sin ser aprovechado por la planta) (Morales-Morales et al., 2019).

Actualmente se ha empezado a desarrollar la nanotecnología en la agricultura, aspirando obtener beneficios que potencien a la agroindustria, considerando que los nanomateriales poseen tamaños de entre 1 a 100 nm; y que estos tamaños reducidos brindan propiedades beneficiosas únicas, que los materiales con mayor tamaño no son capaces de igualar. Sin embargo, las aplicaciones de la nanotecnología en el sector agrícola todavía están poco desarrolladas (Rai et al., 2015).

En el presente trabajo de investigación se elabora y caracteriza un nanofertilizante nitrogenado compuesto de urea-hidroxiapatita (NF-UR-HAP), siguiendo la metodología planteada por Kottegoda et al. (2017) y Tarafder et al. (2020). Se utiliza el método de

precipitación en medio húmedo con ácido fosfórico (H_3PO_4) e hidróxido de calcio ($Ca(OH)_2$) para obtener una suspensión coloidal, en la cual se determina el tamaño hidrodinámico de las partículas y el potencial z , mediante dispersión dinámica de luz (DLS); la concentración de nitrógeno (N) utilizando el método Kjeldahl; y, las concentraciones de calcio (Ca) y fósforo (P) mediante Espectrofotometría de absorción atómica (AA). El secado de la suspensión se realiza a una temperatura de $60^\circ C$ y posteriormente se tritura en un mortero; para poder así, determinar el tamaño de partícula mediante Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) y obtener el espectro infrarrojo del material utilizando Espectroscopia de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR).

El objetivo de este trabajo es reducir las dosis de nitrógeno aplicado en forma de urea a los cultivos, mediante el uso del NF-UR-HAP, aplicando dosis de 25, 50 y 75% menor a la dosis de urea convencional. Se efectuó un experimento en invernadero con plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), comparando la fertilización realizada con urea en dosis normal con las tres dosis del NF-UR-HAP mencionadas anteriormente. Se utilizó un experimento con cuatro tratamientos y ocho repeticiones, en un diseño completamente al azar (DCA). La evaluación del NF-UR-HAP se llevó a cabo midiendo la absorción de N, P y Ca a los tres meses de edad de las plantas.

Capítulo I: El problema de la investigación

1.1 Planteamiento del problema

Los fertilizantes nitrogenados son muy utilizados a nivel mundial, aumentando su consumo desde los 108.2 millones de toneladas en 2011 a 116.0 millones en 2018, correspondiendo el 50% Asia, 16% Estados Unidos, 13% América Latina, 13% Europa, 7% África y 1% Oceanía (Morales-Morales et al., 2019).

Ecuador es un país donde la agricultura tiene gran importancia a nivel social y económico. Los principales productos cultivados son arroz, cacao, banano y caña de azúcar, siendo la exportación del banano y cacao las más importantes para el desarrollo económico del país. El costo promedio que genera el uso de fertilizantes corresponde al 22% de la producción del agricultor, a pesar de que la agricultura sea considerada importante para la economía del país.

Ecuador históricamente es importador de fertilizantes por no contar con la materia prima ni la tecnología necesaria para producirlos (Coba, 2018).

En agricultura, el tipo de fertilizante nitrogenado que se elija usar puede generar, en mayor o menor medida: contaminación de la atmosfera, debido a la emisión del N_2O y NO como gases de efecto invernadero, por la desnitrificación y la volatilización del NH_3 ; contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, por lixiviación del NO_3^- ; acidificación de los suelos y pérdidas económicas (Chien et al., 2009; Avalos & Castro 2017).

Entre el 2013 y 2017 las importaciones de fertilizantes nitrogenados en Ecuador constituyeron el 45.2 % del total de importaciones nacionales de fertilizantes (Coba, 2018). La urea, debido a su alto contenido en nitrógeno (46%), es el fertilizante más utilizado a nivel mundial y es altamente soluble; por lo tanto, las pérdidas por desnitrificación, volatilización y lixiviación son significativas (Morales-Morales et al., 2019). En ese sentido, el uso excesivo de urea en los suelos, combinado con las malas prácticas agrícolas y el aporte de lluvias y riego, produce contaminación del suelo, la atmosfera y, aguas superficiales y subterráneas (Saleem et al., 2014).

La cantidad de urea que se utiliza como fertilizante en el suelo puede reducirse con el manejo adecuado; esto es: usar el fertilizante apropiado, la dosis correcta, en el momento y el lugar

adecuados, de acuerdo con el Modelo 4R para el correcto manejo de fertilizantes (Bruulsema, 2013).

Como alternativa para mejorar el rendimiento de los fertilizantes se han desarrollado varios estudios que incursionan en la nanotecnología, basándose en la optimización del nutriente y minimización de las pérdidas. Las nanopartículas (NPs) debido a su reducido tamaño (< 100 nm), poseen características diferentes al material con tamaño superior. Dichas propiedades, tales como: mayor reactividad y superficie, aumento en la capacidad de penetración en las plantas y alta aglomeración, hacen que los fertilizantes aumenten su asimilación, traslocación y acumulación, mejorando el suministro de nutrientes, controlando la patogenicidad y aumentando la capacidad fotosintética y la tasa de germinación (Hakeem & Pirzadah, 2020; Ghorbanpour et al., 2020).

En la actualidad hay una fuerte tendencia a investigaciones sobre la incursión de la nanotecnología en la agricultura, con la finalidad de mejorar la absorción de los nutrientes en las plantas. Para reducir la aplicación de urea en suelos agrícolas se propone utilizar la nanotecnología en la elaboración de un fertilizante nitrogenado más eficiente, que pueda ser absorbido por las plantas en mayor cantidad, en menor tiempo y que disminuya las pérdidas de nitrógeno.

1.2 Delimitación del problema

Con el propósito de reducir las pérdidas de nitrógeno que se aplica en forma de urea a los cultivos, se incursiona en la nanotecnología. En ese sentido, al considerar el tamaño nanométrico de las partículas, varios estudios han demostrado que las plantas son capaces de absorber los nutrientes en forma más eficiente, reduciendo así las dosis necesarias para un buen desarrollo del cultivo, y disminuir las pérdidas ocasionadas por desnitrificación, lixiviación y volatilización Kottegoda et al. (2017) y Tarafder et al. (2020).

El uso de un nanofertilizante elaborado será evaluado en un cultivo de caña de azúcar. Las variables a estudiar son: absorción de nitrógeno, calcio y fósforo, altura de las plantas y materia seca (MS). El ensayo se desarrollará en un invernadero hasta los tres meses de edad del cultivo.

1.3 Planteamiento de la hipótesis

El uso de un nanofertilizante nitrogenado compuesto por urea y nanohidroxiapatita, que se aplica en dosis reducidas de nitrógeno, puede ser más eficiente que la fertilización con urea en la dosis tradicional.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Reducir la dosis de nitrógeno que se aplica en forma de urea a los cultivos utilizando un nanofertilizante compuesto de urea-nanohidroxiapatita, elaborado mediante el método de precipitación en medio húmedo con ácido fosfórico (H_3PO_4) e hidróxido de calcio ($Ca(OH)_2$).

1.4.2 Objetivos Específicos

- Elaborar el fertilizante nitrogenado formado a base de nanohidroxiapatita con urea utilizando el método de precipitación en medio húmedo.
- Caracterizar el nanofertilizante obtenido, determinando el tamaño hidrodinámico de las partículas mediante dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopía de fuerza atómica (AFM); determinación del potencial z; identificación de grupos funcionales mediante espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR); determinación de calcio (Ca) y fósforo (P) por espectrofotometría de absorción atómica (AA); y, cuantificación de nitrógeno (N) mediante el método Kjeldahl.
- Evaluar la absorción de nitrógeno en plantas de caña de azúcar dentro de un invernadero, comparando la fertilización realizada con urea en dosis normal frente al nanofertilizante elaborado aplicado con dosis reducidas.

1.5 Justificación

La población mundial crece cada vez más, se estima que el incremento es casi 84 millones al año, y el alimento que se debe proveer cada día corresponde a una ciudad de 240.000 habitantes. La necesidad de producir más, en la antigüedad se conseguía ampliando la superficie de tierras sembradas. Actualmente, al no contar con el espacio suficiente, se busca incrementar los rendimientos por hectárea cultivada, y para conseguirlo es necesario agregar al suelo los nutrientes mediante la aplicación de fertilizantes adecuados (Andreu et al., 2006).

El nitrógeno es esencial para el desarrollo de las plantas, está presente en cada una de las células y entre sus principales funciones se encuentran la síntesis de la clorofila y la producción de aminoácidos y proteínas (INPOFOS, 1997). El nitrógeno inorgánico en forma de amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) es el que se encuentra disponible para las plantas y está presente en los suelos agrícolas en cantidades limitadas, y aunque también se encuentre en su forma orgánica, este no es asimilable por las plantas (Usabiaga et al., 2005). Debido a la necesidad del nitrógeno para el buen desarrollo de los cultivos y las cantidades insuficientes en su forma asimilable natural, es imprescindible realizar una fertilización nitrogenada.

Existen diferentes fuentes de nitrógeno en la actualidad, siendo la urea la forma más utilizada alrededor del mundo debido a su alto contenido de N (46 %) y, a la facilidad de transporte y aplicación. Esto hace que se incremente el costo de producción por parte del agricultor, sobre todo cuando las cantidades aplicadas exceden lo que las plantas necesitan para tener buenos rendimientos.

La nanotecnología en el desarrollo de fertilizantes desempeña un papel importante al aumentar la eficiencia del nutriente mediante su liberación controlada en función de las necesidades de las plantas, mejora la calidad del suelo y aminora la cantidad del producto químico utilizado, reduciendo los costos y la contaminación ambiental.

El presente trabajo de investigación busca reducir la cantidad de urea aplicada en los suelos agrícolas, por lo que propone elaborar un nanofertilizante que aumente la disponibilidad del nutriente y la penetración en las raíces, lo que permite una mejor absorción y translocación en el sistema de las plantas.

Capítulo II: Marco teórico

2.1 La agricultura

Para varios países, la agricultura ha sido uno de los pilares de su economía. Se estima que el 70% de la población rural en el mundo tiene a la agricultura como su única fuente de ingresos. Esto obliga a los gobernantes a establecer planes y programas para suministrar los alimentos necesarios a sus poblaciones y generar ingresos para los ciudadanos que dependen directa o indirectamente de la agricultura, realizando labores como preparación del terreno, siembra, manejo del cultivo, cosecha y comercialización (Borja & Valdivia, 2015).

La agricultura que se practicaba hace 200 años era poco eficiente debido a que se basaba en prácticas como labranza, encalado y el uso de fertilizantes químicos, principalmente el Nitrógeno; contribuyendo de esta manera a la descomposición más rápida de la materia orgánica, creando no solamente capas duras (hardpans), también contribuyen a la compactación general de los suelos (Royo & Bernardo, 2004). Actualmente la agricultura enfrenta el reto de mantener y mejorar las tasas de incremento de la productividad, las cuales varían entre países y tipos de agricultura (Díaz et al., 2017).

2.1.1 Revolución verde

A mediados del siglo XVIII inició la revolución industrial, consistió en la transición de una economía agraria y artesana a otra industrial y mecanizada con la utilización de nuevas formas de energía como el carbón, de la máquina a vapor y de nuevos materiales como el acero. La superficie total cultivada en el mundo podría considerarse estable a partir de 1960. Sin embargo, la agricultura se ha incrementado progresivamente en las últimas cinco décadas, principalmente por el aumento en los rendimientos por unidad de superficie como consecuencia del proceso denominado “Revolución Verde” (Andrade, 2016).

La Revolución Verde innovó la forma de cultivar la tierra, principalmente: en la disponibilidad de fertilizante nitrogenado más barato, cultivos con mayor rendimiento, genéticamente modificados para crear resistencia a enfermedades o mejorar características morfológicas de las plantas y en el desarrollo de nuevos herbicidas. Durante este periodo la población mundial aumentó 2.3 veces, pero, la producción de alimentos se triplicó, y los tres

principales cultivos de la humanidad (trigo, maíz y arroz) crecieron más de tres veces en los últimos 52 años, mayormente por el incremento en los rendimientos de producción por unidad de superficie (Andrade, 2016).

2.1.2 Manejo de la fertilidad del suelo

Los suelos agrícolas deben brindar las condiciones que necesitan las plantas para poder desarrollarse adecuadamente. Por ello, existen factores externos entre el suelo y las plantas que controlan el crecimiento, como: aire, temperatura, luz, nutrientes y agua. Las plantas dependen del suelo para obtener cualquiera de ellos, con excepción de la luz, y cada uno de estos factores interactúan uno con el otro afectando para bien o para mal el crecimiento de las plantas (INPOFOS, 1997).

La disponibilidad de nutrientes y el crecimiento radicular están influenciados por el balance que existe entre el suelo con el agua, la temperatura y el aire presente en el suelo. En el caso del crecimiento radicular es necesario fertilizar al suelo para aumentar su productividad, pero, si no se realiza adecuadamente, o no se consideran otros factores como: mal drenaje, insectos, sequía, entre otros, no se logrará obtener suelos productivos; aunque estén fertilizados. En este caso, la cantidad de fertilizantes que se aplica al suelo no es aprovechada en su totalidad por las plantas, algunos nutrientes pueden perderse por lixiviación y erosión, otros como el fósforo (P) y el potasio (K) pueden quedar retenidos por arcillas del suelo o la materia orgánica (M.O), que junto con los microorganismos propios del suelo retienen nutrientes que luego van liberando poco a poco (INPOFOS, 1997). Sin embargo, el balance no es estable y esta es la razón por la cual es esencial entender los principios de la fertilidad del suelo para la producción eficiente de cultivos y la protección ambiental.

2.2 Nitrógeno

El nitrógeno (N) es un elemento químico ubicado al inicio del grupo 15 de la tabla periódica, es el único integrante del grupo que en su forma natural existe como molécula diatómica gaseosa (N₂), conforma el 78% del total del aire en la atmósfera; debido ello la forma de obtención a gran escala es por destilación del aire líquido. A pesar de estar presente en un gran número de compuestos, su forma diatómica N-N requiere un nivel alto de energía para

romper su enlace, solo pocos agentes reductores son capaces de transferir electrones a la molécula a temperatura ambiente. La poca reactividad del N_2 se debe a la resistencia del enlace N-N, una baja polarizabilidad y la diferencia energética que existe entre el HOMO y LUMO en el N_2 , formando una molécula resistente a la transferencia de electrones (Atkins et al., 2008).

El N es considerado uno de los nutrientes más necesarios en las funciones biológicas de todos los seres vivos, formando parte estructural de la pared celular y de macromoléculas como aminoácidos, proteínas, enzimas, vitaminas, hormonas y ácidos nucleicos. En las plantas, una de sus principales funciones es la síntesis de la clorofila y la estimulación del desarrollo y actividad radicular, debido a ello está catalogado como uno de los macronutrientes más esenciales en el desarrollo y buen rendimiento de los cultivos (INPOFOS, 1997; Palma & Segat, 2000; Perdomo et al., 2003).

El proceso de activación de nitrógeno requiere alta temperatura y presión que lo encarecen, comercialmente la transformación del N_2 a amoníaco NH_4^+ (ingrediente principal de los fertilizantes) se conoce como proceso Haber, el cual consiste en la combinación del H_2 y N_2 a presión y temperatura elevadas sobre un catalizador de hierro. Un método más económico para la obtención de nitrógeno activo, aliviaría de gran manera la economía, particularmente al sector agrícola. La forma en la que el nitrógeno atmosférico logra fijarse en el suelo es a través de su conversión catalítica a NH_4^+ mediante la intervención de la enzima nitrogenasa; en este proceso, que ocurre a temperatura ambiente, intervienen bacterias fijadoras de nitrógeno que se encuentran en los nódulos de las raíces de leguminosas (Atkins et al., 2008).

2.2.1 Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno presente en la tierra está sujeto a una serie de transformaciones en sus diferentes estados de oxidación, estando mayoritariamente en su forma orgánica y diatómica gaseosa; las cuales son menos reactivas, por lo que es necesaria su transformación a su forma inorgánica. Todas las transformaciones son procesos en los que intervienen reacciones químicas, enzimáticas y biológicas; al conjunto de todos estos procesos y sus interacciones se conoce como ciclo del nitrógeno (figura 1) (Palma & Segat, 2000; Castellanos et al., 2005).

Las formas en las que se encuentra al nitrógeno en la atmósfera son: como gas diatómico (N_2) y en menor cantidad como óxido nitroso (N_2O), óxido nítrico (NO), dióxido de nitrógeno (NO_2) y amoniaco (NH_3). En el suelo se produce la fijación biológica e industrial, produciéndose todas las reacciones que transforman al nitrógeno en forma de amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-), para finalmente transformarse a su forma orgánica y gaseosa, y así, empezar nuevamente el ciclo (Palma & Segat, 2000; Castellanos et al., 2005).

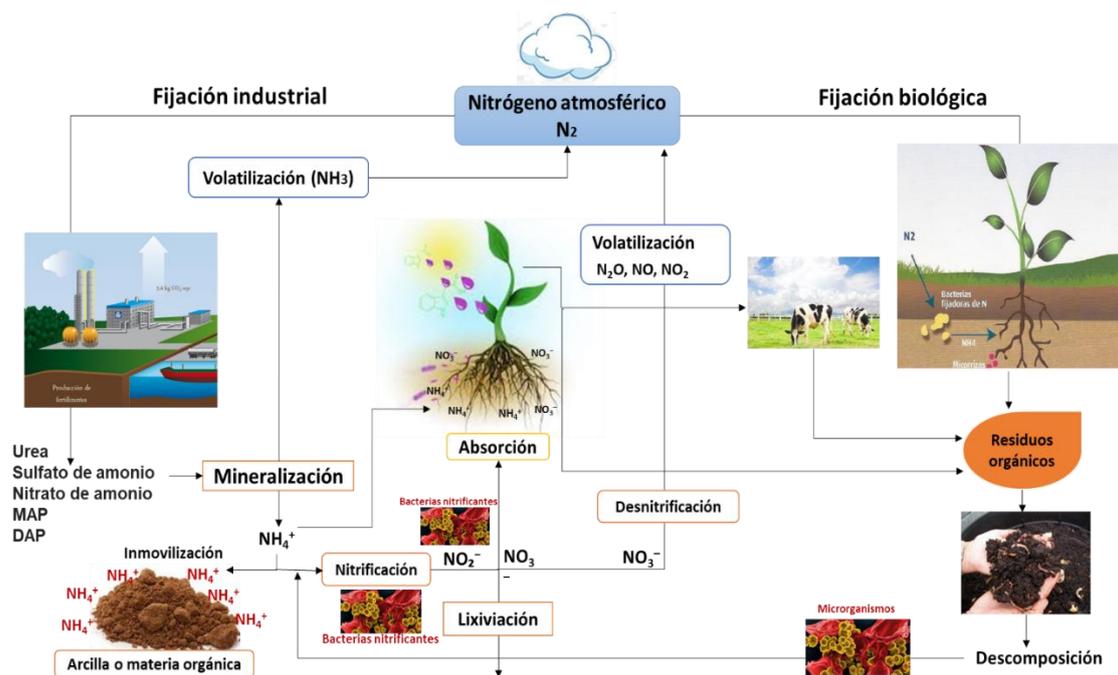


Figura 1. Procesos de transformaciones del nitrógeno en el suelo (Ciclo del nitrógeno). Modificado de Palma & Segat, 2000; Perdomo et al., 2003; Castellanos et al., 2005.

2.2.2 Fuentes de nitrógeno y su disponibilidad en los cultivos

Las principales fuentes de nitrógeno presentes en el planeta son la atmósfera, las rocas ígneas de la corteza terrestre y formando parte de la materia orgánica del suelo. De cualquier fuente natural el nitrógeno no se encuentra en forma disponible para que las plantas puedan asimilarlo como nutriente, por lo menos de forma inmediata, el 98% del total presente en el suelo se encuentra como N orgánico. En una hectárea de suelo puede estar presente unas 300.000 toneladas de nitrógeno en forma de proteínas, aminoácidos, azúcares aminados,

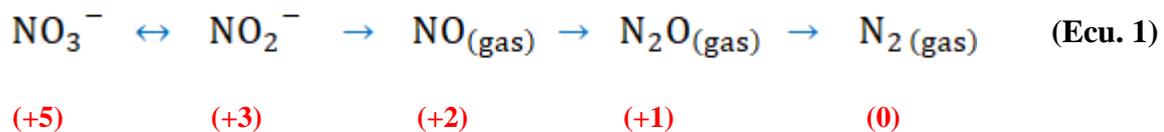
donde, entre el 70 y 75% de nitrógeno orgánico se encuentra formando estructuras complejas que aún no se han logrado identificar (Perdomo et al., 2003). La mayoría de las plantas asimilan el nitrógeno en forma de amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-), excepto las leguminosas que tienen la capacidad de captar N_2 de la atmosfera (Perdomo et al., 2003).

2.2.3 Pérdidas de nitrógeno

Las pérdidas restan eficiencia a la absorción del nitrógeno aplicado como fertilizante; su rendimiento, así como la eficiencia de uso del N (EUN), entre otras consecuencias está la contaminación del agua y atmosfera debido a los compuestos nitrogenados que pueden llegar a formarse. Los procesos en los cuales se dan lugar se conocen como desnitrificación, volatilización y lixiviación (Castellanos et al., 2005; Barbieri et al., 2010).

Desnitrificación

Es un proceso de reducción bioquímico que tiene origen en el suelo, en dónde intervienen microorganismos anaerobios facultativos que pertenecen a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*. Como se muestra en la ecuación 1, el NO_3^- en su estado de oxidación (+5) es reducido a N_2 en estado de oxidación (0), de esta forma se pierde nitrógeno al ser devuelto del suelo hacia la atmósfera mediante el proceso de volatilización (Palma & Segat, 2000; Perdomo et al., 2003).



Durante el proceso se forma mayoritariamente N_2 , pero, también se producen en menor cantidad N_2O y pequeñas trazas NO (Perdomo et al., 2003). El NO a pesar de ser poco reactivo es oxidado por el ozono (O_3) de forma lenta pero constante, formándose así el NO_2 , contribuyendo de esta manera a la formación del O_3 a nivel del suelo o troposférico, considerado como un gas de efecto invernadero (Palma & Segat, 2000; Miñarro, 2009).

Las condiciones que favorecen este proceso son un pH del suelo neutro o ligeramente alcalino, temperatura de 25°C , ausencia de oxígeno, la presencia del NO_3^- junto con sustratos

carbonados y los microorganismos que intervienen. Bajo estas condiciones se han estimado pérdidas de 0,1- 0,2 kg N ha⁻¹ día⁻¹ (Palma & Segat, 2000).

Volatilización

Es un proceso en el cual el nitrógeno presente en el suelo se pierde al ser devuelto a la atmósfera en forma de gas NH₃, que se produce durante la mineralización del fertilizante, o transformando el NH₄⁺; presente en la solución del suelo, en medio alcalino pasa a formar NH₃, como se muestra en la ecuación 2 (Palma & Segat, 2000; Barbieri et al., 2010).



Durante la desnitrificación también se produce el fenómeno de la volatilización como se indica en la ecu. 1. Estudios han demostrado que las pérdidas de nitrógeno por volatilización pueden alcanzar entre el 15 al 40% del total contenido en el fertilizante, siendo la urea el más afectado en este proceso, debido a que, durante su hidrólisis, catalizada por la ureasa, como producto final se obtiene NH₃ (Palma & Segat, 2000; Barbieri et al., 2010).

Para que se produzca en mayor o menor medida la volatilización, dependerá de factores ambientales (humedad, temperatura y viento), características del suelo (pH, capacidad buffer, capacidad de intercambio catiónico, materia orgánica,) tipo de cultivo, los residuos que produzca y finalmente el tipo de fertilizante utilizado (Barbieri et al., 2010).

Lixiviación

También se lo conoce como lavado debido a que se produce mayormente en condiciones de exceso de agua, ya sea por lluvias o por el riego (Perdomo et al., 2003). El NO₃⁻ al tener carga negativa, no es retenido por las arcillas y la materia orgánica presentes en el suelo, se disuelve fácilmente, por esta razón el agua que entra al suelo, desplazando a la que ya se encuentra, lo arrastra hacia los horizontes inferiores (Palma & Segat, 2000).

Existen factores que promueven el fenómeno de lixiviación, como: la textura y la capacidad de intercambio catiónico del suelo, el volumen de la solución de suelo drenado, la dosis y tipo de fertilizante, tipo de cultivo, la microflora del suelo, las condiciones ambientales

(temperatura del suelo, humedad y aireación) y las fases fenológicas de las plantas (Oliveira et al., 2002; Morales-Morales et al., 2019). La aplicación en exceso de fertilizantes aumenta la cantidad de NO_3^- lixiviado, produciendo contaminación del agua superficial y subterránea (Estrada-Botello et al., 2007). Según TULAS/TULSMA (2003-2015), el límite permisible de NO_3^- que Ecuador tiene como norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes de agua es de 10 mg L^{-1} .

2.2.4 Fertilización nitrogenada en caña de azúcar

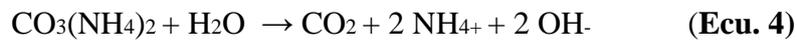
La caña de azúcar es un cultivo de tipo fisiológico C4, que se caracterizan por hacer más eficiente la fijación del carbono durante la fotosíntesis, suelen desarrollarse en regiones áridas o semi-áridas (Cabrera & Zuaznábar, 2010). Su producto principal es el azúcar de mesa, aunque es materia prima principal en la elaboración de etanol (Zúñiga & Gandini, 2013; Moreno-Seceña et al., 2016).

Es un cultivo que demanda varios insumos, entre los cuales los fertilizantes nitrogenados son unos de los que tienen mayor importancia; por lo que, en ocasiones el uso excesivo acompañado de un manejo inadecuado ocasiona altas pérdidas del nutriente, así como contaminación ambiental (Moreno-Seceña et al., 2016). La dosis de nitrógeno necesaria en un cultivo de caña de azúcar dependerá de la variedad, así como de las características del suelo, el clima, los factores bióticos y las prácticas agrícolas utilizadas. Si el nutriente no es aplicado en cantidades necesarias los rendimientos disminuyen, y si se aplica en exceso disminuye el contenido de sacarosa en los tallos, por lo que la dosis, el tiempo y la forma correcta de aplicarlo es de suma importancia (Ruiz et al., 2014).

2.3 Urea

Es un compuesto orgánico que se produce en forma sintética a gran escala para ser usado como fertilizante nitrogenado, siendo el de mayor importancia y el más utilizado a nivel mundial, debido a que es el que contiene mayor cantidad de nitrógeno (46 %), bajo costo del producto y de transporte por unidad de N, manejo seguro y puede ser utilizado en suelos neutros o ligeramente alcalinos (Perdomo et al., 2003).

Es bastante soluble en agua (108 g 100 ml⁻¹ a 20°C); por lo tanto, puede ser disuelto en el agua de riego o aplicarse en forma foliar debido a que se absorbe rápidamente por las hojas. Cuando se aplica al suelo es hidrolizada por una enzima (ureasa) presente naturalmente en el suelo, formando carbonato de amonio (CO₃(NH₄)₂) (ecuación 3), una molécula bastante inestable que se descompone rápidamente de acuerdo con la ecuación 4. El producto final de estas dos reacciones es el NH₃, dando origen a las pérdidas por volatilización de este compuesto presente en la superficie (Perdomo et al., 2003; Morales-Morales et al., 2019).



2.3.1 Producción de urea

Es un proceso en el cual se hace reaccionar NH₃ con dióxido de carbono CO₂ utilizando un catalizador a temperatura entre 170 y 210 °C y presión entre 170 y 400 atmosferas; como se muestra en la Figura 2 (Morales-Morales et al., 2019). Las reacciones que se producen se muestran en las ecuaciones 5 y 6:

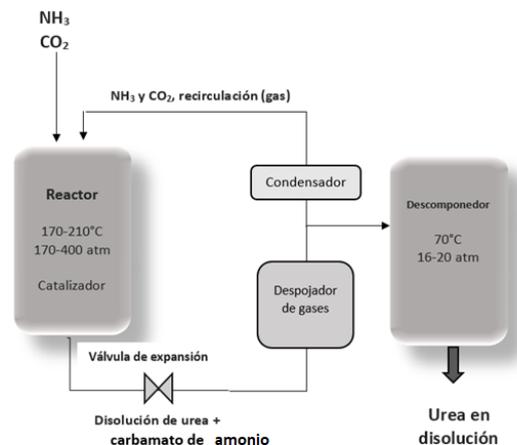


Figura 2. Proceso de elaboración de urea. Modificado de Morales-Morales et al., 2019.

2.3.2 Importaciones de urea en Ecuador

La urea es el fertilizante nitrogenado más utilizado en Ecuador. Debido a que no existe producción nacional se hace necesaria la importación de países productores, entre los que se encuentran: Rusia, China, Estonia, Países Bajos y Chile (OEC, 2019). Con respecto a las empresas importadoras existen 49 que se han dedicado a esta actividad. En el Cuadro 1 se muestran las empresas que participaron en la importación de urea durante el año 2015, junto con el porcentaje de participación (Sánchez, 2020).

Cuadro 1. Distribución de las importaciones de urea por empresa, Ecuador- 2015.

Empresas	Importación de urea
Unidad nacional de almacenamiento	26%
Fertisa S.A.	17%
Delcorp S.A.	12%
Agripac S.A.	11%
Banco Nacional de fomento	10%
Fertilizante del Pacifico S. A	9%
Banco del Pacifico C. A	6%
Fermagri S.A.	4%
Quimasa S.A.	3%
Interquimec	2%

Modificado de Sánchez, 2020.

2.4 Hidroxiapatita

La hidroxiapatita (HAP) se encuentra naturalmente en la dentadura y huesos de animales y seres humanos, conformando entre el 65 y 70% de la parte inorgánica total del cuerpo humano, dando la característica de dureza a estos materiales (Marín, 2018; Valdivieso, 2020). Existen varios métodos para producir hidroxiapatita sintética, su elaboración ha sido de gran interés debido a que tiene excelente biocompatibilidad y actividad biológica y se utiliza en biomedicina para la construcción de huesos y placas dentales, siendo una excelente alternativa ya que los tejidos óseos artificiales no han podido igualar a los naturales (Tampieri et al, 2003; Nayak, 2010; Jin et al., 2015).

2.4.1 Composición

La HAP es un mineral que pertenece al grupo de los fosfatos de calcio, su fórmula es: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, teóricamente compuesta por 39.89% de Calcio, 18.50% fósforo, 41.41% oxígeno y 0.20% de hidrógeno; con una relación molar Ca/P de 1.67 (Ferraz et al., 2004), que dependerá del método de síntesis utilizado, el pH en el proceso de precipitación y la temperatura de reacción (Rivera et al., 2010). Como se muestra en la Figura 3, puede presentar en su estructura sitios ácidos y básicos, tipo Lewis o Brønsted, lo que dependerá de la relación molar Ca/P que posea la hidroxiapatita (Valdivieso, 2020).

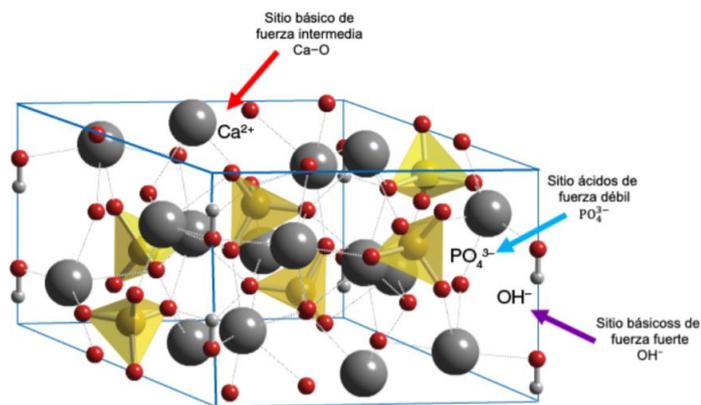


Figura 3. Estructura cristalina de la Hidroxiapatita. Aportado por Valdivieso, 2020.

2.4.2 Síntesis

Existen varios métodos que se han estudiado para la síntesis de hidroxiapatita, algunos más sensibles a los cambios de pH, temperatura y velocidad de reacción. Entre todos los métodos el más utilizado es el de precipitación química, debido a que es el más sencillo y económico (Valdivieso, 2020); y, el método hidrotérmal que ha reportado la mejor repetibilidad (Gómez, 2018). A continuación, una breve descripción de cada uno de los métodos.

Síntesis húmeda

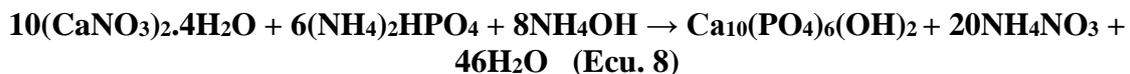
Tiene mayor uniformidad en el tamaño de partícula y existe menos probabilidad de contaminación del material (Gómez, 2018). Entre la síntesis húmeda se utilizan métodos como:

Síntesis Hidrotérmica: Se utilizan disoluciones que se someten a temperaturas entre 140 y 500 °C. La temperatura es un parámetro que al superar los 60°C se obtiene partículas policristalinas, pero con variabilidad de tamaño y morfología, obteniendo cristales macrométricos deformes y poco uniformes (Nayak, 2010; Gómez, 2018).

Síntesis por Precipitación: Un método económico y sencillo, por lo que es uno de los más estudiados. Generalmente se hacen reaccionar una disolución de ácido fosfórico (H₃PO₄) con una suspensión de hidróxido de calcio (Ca (OH)₂), con agitación constante y control de temperatura, no mayor de 60°C y pH entre 10 y 12 (ecuación 7) (Ferraz et al., 2004).



Otros compuestos en disolución que se pueden utilizar en este método son: Nitrato de calcio tetrahidratado ((CaNO₃)₂.4H₂O), fosfato Mono ácido de diamonio ((NH₄)₂HPO₄) y el hidróxido de amonio (NH₄OH) (ecuación 8) (Garcia et al., 2006).



Síntesis Sol-Gel: Existe un control en el tamaño de poros, las desventajas de este método son su costo, heterogeneidad en el tamaño de partículas y control estricto durante el proceso. La temperatura tiene bastante importancia favoreciendo el proceso de gelificación, las cuales pueden ser entre 80 y 1200 °C, dependiendo de los reactivos utilizados (Ferraz et al., 2004).

Síntesis química seca

Se utiliza en la producción a mayor escala de HAP, dando como resultados tamaños más grande y con mayor uniformidad (Gómez, 2018). En este caso se utilizan dos métodos que son:

Síntesis en estado sólido: Se mezclan los reactivos en un mortero, que pueden ser nitrato de calcio tetrahidratado ((CaNO₃)₂.4H₂O), fosfato diamónico ((NH₄)₂HPO₄), carbonato de calcio (CaCO₃) y fosfato dicálcico Ca₃(PO₄)₂; posteriormente la mezcla es sometida a altas temperaturas para obtener HAP cristalina (Gómez, 2018).

Síntesis químico-mecánica: Pueden ser utilizadas las mismas fuentes de Ca y P que en la síntesis sólida. En este caso se realiza un proceso de molienda seca o húmeda, utilizando un

molino de bolas y solventes de ser necesario con temperatura de 700 °C, como resultado se obtiene HAP con alta cristalinidad y tamaño más grande (Gómez, 2018).

2.4.3 Propiedades

Pertenece al grupo de minerales fosfatos, posee una cristalinidad hexagonal di piramidal, densidad de 3.16 g/cm³, dureza de 5 Mohs y solubilidad en ácidos. Entre las características que más importancia tenemos: biocompatibilidad, material oseoconductor que ayuda al crecimiento de hueso y posee buena elasticidad y rigidez (Gómez, 2018; Marín, 2018).

2.4.4 Aplicaciones

Se utiliza como una biocerámica en el campo de la biomedicina, odontología, en la ingeniería de tejidos óseos, absorción de iones de metales pesados, materiales fluorescentes, separación de proteínas y portadores de fármacos, entre otros (Nayak, 2010; Jin et al., 2015).

2.4.5 Nanohidroxiapatita

Es un material revolucionario con gran capacidad mineralizante, superando al fluoruro, el tamaño de partícula mejora las características de la HAP, llegando a ser más reactivo y eficiente. Forma parte natural del hueso, en forma de cuchillas estrechamente conectadas con el colágeno ([Tampieri et al, 2003](#); Ferraz et al., 2004; Alban et al., 2020)

2.5 Nanotecnología

El término nanotecnología fue definido por primera vez en el año 1974 por Norio Taniguchi, profesor de la Universidad de Ciencias de Tokio, como la ciencia que estudia el diseño, la síntesis, la caracterización y el uso de materiales con tamaño nanométrico; aproximadamente entre 1 y 100 nanómetros. Todo material con tamaño de partículas nanométricas posee características que permite su uso de manera revolucionaria, el estudio de la nanotecnología va acompañado de novedosas técnicas de análisis para obtener imágenes, medir, modelar y manipular a los materiales a esta escala (Kulkarni, 2015; Panpatte & Jhala, 2019).

A pesar de que el término ya existe desde hace cinco décadas, y hasta la fecha se hayan realizado varios estudios con diferentes tipos de materiales a esta escala, aún falta mucho por conocer. Una de las preocupaciones en la actualidad es la escasa información sobre la

toxicidad de estos materiales debido a su alta reactividad. Esta preocupación frena los avances para el uso cotidiano en los diferentes campos posibles (Panpatte & Jhala, 2019; Ghorbanpour et al., 2020; Hakeem & Pirzadah, 2020).

2.5.1 Aplicaciones

Las aplicaciones que hasta la actualidad han tenido mayor impacto son: en la producción de energía a partir de hidrógeno, fabricación de pinturas con NPs para automóviles, en el área de los deportes se han fabricado nanotubos para la elaboración de instrumentos como raquetas de tenis, en la industria de textiles se han utilizado NPs para la elaboración de fibras sintéticas con características de algodón y NPs de plata que hacen que la ropa esté libre de gérmenes; en el campo de los cosméticos se han utilizado NPs de oro, plata, cobre, platino, alúmina, sílice, liposomas, lípidos sólidos, nano-emulsiones y óxidos metálicos, como el de zinc y titanio, en formulaciones de diversos productos; en medicina se ha utilizado nanotecnología en imágenes médicas, administración de fármacos, detección y destrucción de cáncer y tumores en las primeras etapas, cirugía, cicatrización de heridas, cardiología, tratamiento de Alzheimer y Parkinson, tratamiento de diabetes, odontología, prótesis de visión y audición, en implantes corporales, entre otros (Kulkarni, 2015).

Agricultura Alimentos: En este caso la nanotecnología está interviniendo en la elaboración de empaques que mejoran la conservación del alimento, en la reducción de las dosis de productos químicos como pesticidas y fertilizantes, minimizando el requerimiento de agua y en sensores eficientes e inteligentes capaces de detectar toxinas u otros compuestos tóxicos presentes en los alimentos, entre otros. Aunque algunas aplicaciones aun estén en desarrollo, los científicos están trabajando para que se hagan realidad (Kulkarni, 2015).

2.5.2 Síntesis de nanomateriales

La nanotecnología abarca un gran número de técnicas físicas, químicas, biológicas e híbridas útiles en la síntesis de nanomateriales con diferentes formas como: coloides, racimos, polvos, tubos, varillas, alambres, películas delgadas, entre otras (figura 4) (Kulkarni, 2015).

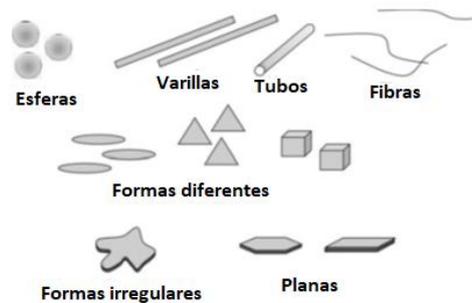


Figura 4. Diferentes formas de coloides. Aportado por Kulkarni, 2015.

2.5.3 Nanofertilizantes

Debido al reducido tamaño de partículas, las características de los materiales cambian de gran manera, aumentando su reactividad y la relación superficie/volumen, siendo así más eficientes, se podría reemplazar a los fertilizantes convencionales en un intento poderoso hacia una agricultura sostenible. Se puede elaborar tanto fertilizantes nanométricos como conjugado; con un material nano que lo contenga, y que pueda ser liberado de forma lenta y sostenida según el requerimiento nutricional de las plantas. Varios estudios han indicado que mejoran los rendimientos de los cultivos, la fertilidad del suelo y el vigor de las plantas. No se ha demostrado su toxicidad, aunque es un tema que preocupa actualmente (Panpatte & Jhala, 2019; Hakeem & Pirzadah, 2020).

Las variantes de nanofertilizantes que han sido objeto de estudio con diferentes materiales son: zeolita, cobre, sílice, aluminio, carbono, zinc y nitrógeno; utilizando como transportadores o material de relleno nanoarcillas, NPs de sílice mesoporosa (MSN), NPs de hidroxiapatita y NPs poliméricas para el suministro de macro y micronutrientes. Las características que poseen estos materiales son su disposición estructural única que ofrece protección a los nutrientes y la formación de enlaces débiles con nutrientes que les permite una liberación controlada y sostenida. Estos han sido los principales objetos de varios estudios, así como, demostrar el buen rendimiento de los cultivos aplicando la mínima cantidad de producto con una mayor viabilidad económica (Panpatte & Jhala, 2019).

2.6 Caracterización del nanofertilizante

Para los diferentes tipos de NPs producidas utilizando varios métodos mencionados anteriormente, existen técnicas de caracterización que se adaptan a cada uno dependiendo del material e información complementaria que se necesite. Con estas técnicas se puede determinar principalmente el tamaño, tipo cristalino, composición, estado térmico, químico y propiedades ópticas o magnéticas (Kulkarni, 2015). A continuación, se detallan las técnicas que se utilizaron en la caracterización del nanofertilizante elaborado en el presente trabajo de investigación.

2.6.1 Difracción de rayos X (XRD)

La difracción de rayos X, por sus siglas en inglés (XRD), es una técnica utilizada en la caracterización de materiales cristalinos, en la cual utilizan ondas de radiación electromagnética con longitudes entre 10 y 10^{-2} nm, conocidos como rayos X, específicamente para dispersión se trabaja con longitudes entre 0.05 a 0.25 nm (Pérez & Serrano, 2014).

De la misma forma en que los objetos se muestran dispersando luz visible, los rayos X dispersados por los electrones que poseen los átomos permiten comprender la disposición de los átomos en los sólidos. Las distancias entre los átomos en los materiales sólidos son comparables a la longitud de onda de los rayos X, por lo que se produce la dispersión de la onda electromagnética. Para esta técnica analítica los rayos X se producen cuando una partícula cargada eléctricamente con suficiente energía cinética es frenada rápidamente, los electrones son las partículas utilizadas habitualmente y la radiación se obtiene en un dispositivo conocido como tubo de rayos X (Skoog et al., 2008; Kulkarni, 2015).

2.6.2 Dispersión dinámica de luz (DLS)

La técnica de dispersión de luz dinámica, por sus siglas en inglés (DLS), es una herramienta simple, fácil y reproducible, con la que se puede determinar la concentración, forma y tamaño de NPs con forma irregular y dispersa en un medio líquido. Depende de las fluctuaciones de intensidad de la luz visible dispersada, mientras hacen un movimiento browniano aleatorio en el líquido, en donde el tamaño de las partículas tiene que ser mucho menor que la longitud de

onda de la luz utilizada como fuente (figura 5). Es una técnica no destructiva que permite medir tamaños de partículas desde 0.1 nm de diámetro hasta tamaños micrométricos (Kulkarni, 2015; Guevara, 2019). Los valores obtenidos corresponden a la media del tamaño hidrodinámico; en otras palabras, el tamaño real de la partícula dinámica hidratada y solvatada; pudiendo o no contener modificaciones en su superficie; es decir, que este interactuando con otras moléculas (Rodríguez-Lugo et al., 2020).

Las NPs pueden estar dispersas en diferentes líquidos, por lo que es necesario conocer el índice de refracción y la viscosidad del líquido para el respectivo análisis, debido a que iones que podrían estar en el líquido producen una variación de la velocidad de difusión del sistema coloidal, alterando así su radio hidrodinámico, otro parámetro a considerar es la temperatura que debe ser constante (Guevara, 2019).

Otro de los parámetros importantes que muestra la DLS, es el Índice de Polidispersidad (IP), un valor adimensional que con valores mayores a 0,7 significan que es una muestra con una distribución amplia y quizás no sea apta para la técnica (Guialab, 2018). La tecnología DLS incluye un acoplamiento con fuente de ampliación del campo eléctrico que permite la determinación del potencial z en la suspensión (Rodríguez-Lugo et al., 2020).

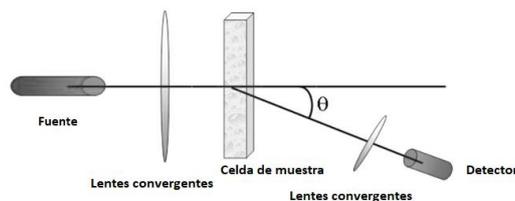


Figura 5. Geometría de dispersión de luz. Aportado por Kulkarni, 2015.

2.6.3 Potencial zeta

El potencial zeta es una propiedad de la materia que está relacionada con la carga que una partícula posee sobre su superficie y que influye significativamente en el comportamiento que poseen las suspensiones coloidales. Específicamente es el potencial eléctrico en la doble capa interfacial que mide el potencial electrocinético en sistemas coloidales. El valor de potencial zeta que posean las suspensiones determinará la estabilidad de las dispersiones coloidales indicando el grado de repulsión entre partículas adyacentes (Villafuerte et al., 2008; Mayoral

et al., 2014). Valores altos en el potencial zeta brindan estabilidad de la solución, en otras palabras, se evita la agregación de la dispersión. Lengowski (2016) menciona que el valor límite para la floculación o coagulación de las partículas en la suspensión es de 15,0 mV, y valores mayores a $\pm 30,0$ mV indican suspensiones más estables (Villafuerte et al., 2008; Mayoral et al., 2014). La forma en la que se determina el potencial zeta es midiendo la velocidad de deslizamiento de la partícula en un campo eléctrico de fuerza conocida, esta medida proporciona un valor del potencial electrostático de la superficie de la partícula (Mayoral et al., 2014).

2.6.4 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

La microscopía de fuerzas atómicas, por sus siglas en inglés (AFM), es una técnica en la cual se utiliza un microscopio que pertenece a la familia de Microscopios de sonda de barrido, equipos bastante útiles para la caracterización de NPs. Este tipo de microscopios tienen una sonda con una punta fina de metal de 10 nm de diámetro que puede ser de Si, Pt-Ir o Pt-Rh, o también recubiertas con una película de diamante (figura 6). Las puntas se colocan en un cantiléver o voladizo, que se coloca en un accionamiento piezoeléctrico con el objetivo de escanear la superficie de la muestra de la cual se obtendrá la imagen. El microscopio AFM se creó con el objetivo de superar limitaciones que tenían los primeros Microscopios de sonda de barrido, como por ejemplo, poder llevar a cabo espectromicroscopias y que no se necesite que la muestra sea un conductor o semiconductor (Kulkarni, 2015; Rodriguez, 2018).

Con la AFM se puede obtener información precisa de NPs en las tres coordenadas del espacio X, Y y Z de una superficie, el tamaño, morfología, estructura dispersión y agregación. Tiene tres modos de operación con diferentes magnitudes de fuerzas que son: por contacto, no contacto o intermitente según las condiciones y el tipo de muestra. Los elementos que lo componen son: la punta, cantiléver o voladizo, escáner o detector piezoeléctrico, el sistema de retroalimentación y el sistema óptico de detección. La punta que se encuentra colocada en el cantiléver se acerca o se aleja de la superficie de la muestra desviando el haz del voladizo, y un láser mide esa desviación (Guevara, 2019).

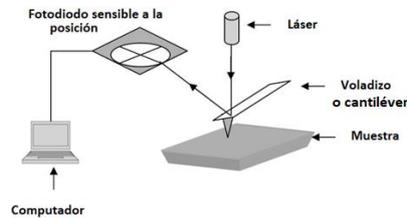


Figura 6. Esquema de un microscopio de fuerza atómica. Aportado por Kulkarni, 2015.

2.6.5 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier por sus siglas en inglés (FTIR) es una técnica que utiliza el interferómetro de Michelson para registrar los espectros (figura 7), donde un haz paralelo de rayos infrarrojos cae sobre el divisor de haz, parte del haz cae sobre un espejo móvil y uno fijo reflejando los rayos desde ambos espejos a lo largo del mismo camino interfiriendo sobre el divisor de haz, el cual incide sobre la muestra y el detector, como se muestra en la figura 7. Todas las interacciones que produce el divisor de haz dependen de la longitud de la trayectoria de los rayos de luz blanca que contiene un amplio espectro continuo de longitudes de onda, produciendo un patrón de interferencia constructivo y destructivo (Kulkarni, 2015).

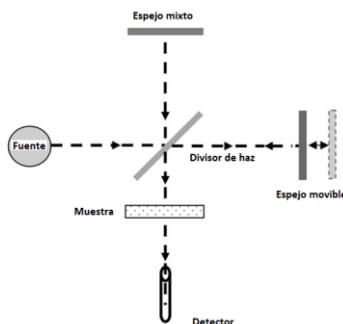


Figura 7. Esquema del interferómetro de Michelson. Aportado por Kulkarni, 2015

Mediante la técnica FTIR se pueden obtener espectros de reflexión de las bandas de los grupos funcionales tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas, para lo cual se aplica el principio de las vibraciones moleculares producidas por la absorción de la radiación infrarroja. Mediante la interpretación de los espectros FTIR se pueden identificar una gran

cantidad de sustancias químicas presentes en una muestra en estado sólido, líquido o gaseoso (Gallardo, 2019).

2.6.6 Método Kjeldahl

A pesar de no ser una técnica utilizada para la caracterización de nanomateriales, en este trabajo de investigación es utilizada con la finalidad de cuantificar el nitrógeno total presente en la muestra del nanofertilizante.

Es el método de referencia debido a su facilidad de ejecución y precisión en diferentes tipos de muestras. El procedimiento inicia con la descomposición o mineralización de la muestra utilizando ácido sulfúrico y sulfato de potasio en presencia de sulfato de cobre como catalizador por un tiempo determinado (2 horas aproximadamente), a una temperatura de 420°C. Posteriormente se someterá a un proceso de destilación, finalmente se titulará para así determinar el contenido de nitrógeno en la muestra (Lanza et al, 2016; Lopez, 2020).

2.6.7 Espectrofotometría de absorción atómica (AA)

La espectrofotometría de absorción atómica (AA) es una técnica analítica ampliamente usada para la cuantificación de trazas de metales pesados y metaloides hasta en el orden de las partes por millón (ppm), pudiendo analizar diversas matrices, tales como: fluidos biológicos, alimentos, suelos, tejido vegetal, aguas, entre otros. El procedimiento para el análisis empieza con la preparación de la muestra, la cual se somete a procesos de lixiviación o extracción y digestión ácida; pudiendo ser húmeda, seca o asistida por microondas. El objetivo de preparar la muestra es obtener una disolución del analito que posteriormente será atomizado (Gallegos et al., 2012; Cajaleon & Concepcion, 2018).

Capítulo III: Materiales y métodos

3.1 Enfoque y tipo de la investigación

El presente trabajo utilizó un enfoque de investigación cuantitativo en la elaboración de un nanofertilizante nitrogenado y caracterizado mediante técnicas analíticas que miden ciertas propiedades específicas del material, y evaluado de forma experimental en plantas de caña de azúcar, demostrando que el producto es capaz de solucionar el problema planteado cumpliendo con la hipótesis y los objetivos establecidos.

Los tipos de investigación que se utilizaron se detallan a continuación:

Descriptiva

Mediante un análisis bibliográfico se demostró la existencia de un problema real, que está afectando a los suelos agrícolas, aguas y a la atmosfera, para lo cual se propuso una posible solución.

Tecnológica: Se desarrolló un fertilizante nitrogenado formado por nanohidroxiapatita y urea, utilizando una metodología específica, referenciada, para poder aplicarlo en la solución del problema planteado.

Experimental: El ensayo se desarrolló sobre plantas de caña de azúcar en un invernadero, con la finalidad de confirmar la efectividad del producto elaborado y se analizó el efecto que tiene una variable independiente sobre cinco variables dependientes.

3.2 Lugares donde se desarrolló la investigación

El nanofertilizante fue elaborado y caracterizado a pequeña escala en el Laboratorio de Nanoestructuras de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (LB-1), con la autorización de la Dra. Martha Suarez, Decana de la Facultad y bajo la supervisión del Dr. Pablo Bonilla, Jefe del Laboratorio, quien cuenta con formación académica y experiencia en el área de nanotecnología. El método fue replicado a mayor escala en el Laboratorio Químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) (LB-2).

El ensayo de invernadero se desarrolló en el área de variedades del CINCAE, el cual tiene sus instalaciones en el Km. 49.5 de la vía Durán-El Triunfo, en la provincia del Guayas.

3.3 Población de estudio y muestreo

La efectividad del nanofertilizante elaborado se evaluó en un cultivo de caña de azúcar, variedad ECU-01, desarrollada en el Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE). Las muestras evaluadas fueron las hojas y tallos de las plantas en todos los tratamientos y repeticiones utilizando un muestreo por conveniencia.

3.4 Tratamientos

Se realizó un ensayo dentro de un invernadero con cuatro tratamientos y ocho repeticiones (cuadro 2), sembrados en macetas de 8 litros de capacidad.

Cuadro 2. Tratamientos para ensayo de dosis de nitrógeno utilizando el nanofertilizante elaborado y urea como testigo, en caña de azúcar, variedad ECU-01, en CINCAE.

N°	Tratamientos	Cantidad (g)	N	
			Kg Ha ⁻¹	g maceta ⁻¹
T1	TESTIGO - UREA 100 %	4.00	120	1.80
T2	NF-UR-HAP 75%	3.53	90	1.35
T3	NF-UR-HAP 50%	2.35	60	0.90
T4	NF-UR-HAP 25%	1.18	30	0.45

NF-UR-HAP: nanofertilizante urea-hidroxiapatita

3.5 Variables de estudio

Variable independiente: Dosis de Nitrógeno reducidas al 75, 50 y 25%, utilizando como testigo solo urea (46%N) en la dosis recomendada para caña de azúcar (120 kg N ha⁻¹), las cuales, al realizar los cálculos considerando la población por hectárea al año, fueron determinadas como se muestra en el cuadro 2.

Variables dependientes: Para determinar el efecto que producen las diferentes dosis de N, se evaluaron: altura semanal de las plantas, desde los 45 hasta los 90 días de edad; materia seca

(MS) a los 90 días; y, concentraciones de N, P y Ca en las hojas, a los 90 días desde siembra del cultivo.

3.6 Metodología

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en tres etapas experimentales:

1. Elaboración del nanofertilizante nanohidroxiapatita-urea (NF-UR-HAP)
2. Caracterización del material obtenido.
3. Evaluación de la efectividad del nanofertilizante sobre el cultivo de caña de azúcar en un ensayo dentro de un invernadero.

3.6.1 Materiales y equipos

Los materiales y equipos utilizados están a cargo del Laboratorio de Análisis del Instituto Nacional de Patrimonio Cultural, Laboratorio de Nanoestructuras de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (LB-1) y del Laboratorio Químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) (LB-2).

3.6.2 Elaboración del nanofertilizante

El método utilizado para la formación de NPs de HAP, ampliamente descrito por varios autores como Ferraz et al., (2004); Garcia et al., (2006), Rodríguez-Lugo et al., (2020) y Tarafder et al. (2020), entre otros, se basa en la reacción de precipitación húmeda del hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) con la adición gota a gota del ácido fosfórico (H_3PO_4) 0.6 M; la reacción que se desarrolla se muestra en la ecuación 10. Con el objetivo de confirmar la síntesis de hidroxiapatita, se realizó el método sin utilizar urea, se secó la muestra en una estufa a 105 °C y se envió al Laboratorio de Análisis del Instituto Nacional de Patrimonio Cultural para su caracterización por difracción de rayos X.



En la elaboración del nanofertilizante en suspensión (UR-HAP-1), realizado en el LB-1, se utilizó la metodología descrita por Kottegoda et al. (2017). El UR-HAP-1 elaborado está constituido por la unión de NPs de HAP con urea en una relación de 1:6. Ellos incorporan la

urea en la suspensión de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, con la finalidad que esta quede adherida en la superficie de la NPs de HAP formada. Se pesaron 3.22 g de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, marca PanReac AppliChem y 25 g de urea, marca Fertisa, en un vaso de precipitación de 250 ml, se agregaron 25 ml de agua destilada y se agitó hasta la disolución completa de la urea. Posteriormente se agregaron 40 ml de H_3PO_4 marca J.T.Baker 0.6 M desde una bureta a una velocidad de 20 gotas por minuto, con agitación magnética a 1000 rpm. Al finalizar se continuó la agitación durante una hora, se dejó en reposo en la nevera hasta el día siguiente y se centrifugó la suspensión obtenida a 3000 rpm durante 10 minutos.

Para la elaboración del nanofertilizante en suspensión (UR-HAP-2) y sólido (NF-UR-HAP); realizados en el LB-2, se utilizó la misma metodología antes descrita, con pequeñas modificaciones. La relación urea-nanohidroxiapatita, considerada para las muestras UR-HAP-2 y el NF-UR-HAP fue 1:3. Se pesaron los mismos reactivos: 19.32 g de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y 75 g de urea en un vaso de precipitación de 2 L, se agregaron 150 ml de agua destilada y se colocó en una plancha de agitación a 800 rpm hasta la disolución completa de la urea. Posteriormente se agregaron 220 ml de H_3PO_4 0.6 M con ayuda de un embudo de decantación, luego se procedió de la misma forma antes descrita.

La muestra UR-HAP-2 se colocó en una bandeja y se secó en la estufa a 60°C durante 20 horas. Finalmente, el NF-UR-HAP obtenido se retiró de la bandeja, se trituró en un mortero y se guardó en una funda ziploc, para posteriormente ser utilizado en el ensayo del invernadero.

3.6.3 Caracterización del nanofertilizante

Determinación del tamaño hidrodinámico

El tamaño hidrodinámico se realizó mediante la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) en el analizador de nano partículas, marca Horiba Scientific modelo SZ-100. Este funciona con un láser He-Ne a una longitud de onda de 633 nm y una detección con ángulo de 90° . Se utilizó una celda de cuarzo de 10 mm. Como dato complementario se determinó el índice de refracción (IR) a las suspensiones UR-HAP-1 y UR-HAP-2, en un refractómetro manual, marca Atago. Se llenó la celda y se insertó apropiadamente dentro del equipo para realizar las determinaciones según el protocolo de uso del equipo, los resultados quedaron registrados en el computador utilizando el software DLS.

Potencial zeta

Se utilizó el mismo equipo anterior y una celda capilar plegada para determinar el potencial zeta en las muestras UR-HAP-1 y UR-HAP-2. Se llenó la celda con muestra y se la insertó apropiadamente dentro del equipo para realizar las determinaciones. Los resultados quedaron registrados en el computador.

Tamaño de partícula

El tamaño de partículas se realizó en el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM), marca Park Systems, modelo NX-10. Se secó 1 ml de la muestra UR-HAP-1 en una estufa a 60°C; luego, con ayuda de un vortex, se disolvió con agua destilada en un tubo de ensayo de 10 ml. Se agregaron unas gotas de la muestra sobre una placa de vidrio, previamente enjuagada con metanol, se dejó secar en la estufa a 60°C, para finalmente analizar en el AFM en modo No Contacto con un espacio entre aguja y muestra de 8 nm y a una velocidad de barrido de 0.5 Hz. La muestra UR-HAP-2 se analizó sin dilución, secando unas gotas sobre la placa de vidrio, para luego analizar en el AFM del mismo modo antes descrito.

Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El espectro infrarrojo del NF-UR-HAP se obtuvo en el espectrofotómetro FT/IR, marca JASCO, modelo FT/IR-4600. Se trituró 1 g de muestra en un mortero y se colocó en el equipo cuidadosamente para obtener el espectro que muestra los grupos funcionales característicos que contiene.

Contenido de nitrógeno (N)

La concentración de N de las muestras UR-HAP-1, UR-HAP-2, NF-UR-HAP y de las hojas de caña de azúcar se determinó mediante el método Kjeldahl (Coomb's et al, 1985), utilizando el sistema Kjeldahl, marca Gerhardt, modelo Vapodest 45s.

Contenido de calcio (Ca)

La concentración de Ca en las muestras UR-HAP-1, UR-HAP-2, NF-UR-HAP y de las hojas de caña de azúcar se midió utilizando el método AOAC N°985.35 (AOAC Internacional,

2012), en un espectrofotómetro de absorción atómica (AA), marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 100.

Contenido de fósforo (P)

La concentración de P presente en las muestras UR-HAP-1, UR-HAP-2, NF-UR-HAP y de las hojas de caña de azúcar se determinó por medio del método colorimétrico descrito en la AOAC N°995.11(AOAC Internacional, 2012), utilizando un espectrofotómetro UV/Vis, marca Perkin Elmer, modelo Lambda 25.

3.6.4 Evaluación de la efectividad del nanofertilizante

Selección y tratamiento del suelo

Se utilizó un suelo con bajo contenido de materia orgánica y de textura arenosa. Se homogenizaron 250 Kg del suelo y se tomó una muestra que se secó en la estufa a 60°C, se molió, tamizó y se guardó en una funda ziploc para realizar el análisis fisicoquímico en el LB-2.

Selección de la semilla

Se cortaron 10 tallos de caña de azúcar de la variedad ECU-01, se extrajeron las yemas y se seleccionaron las más vigorosas; luego, con el objetivo de eliminar microorganismos para obtener una semilla sana, se realizó un tratamiento hidrotérmico a baño María a 51°C durante 45 minutos, después se lavaron con agua circulante a temperatura ambiente por 24 horas, y se sumergieron durante un minuto en una disolución de tebuconazol al 0.2 % (Castillo et al., 2003). Las yemas tratadas fueron colocadas en bandejas con ceniza, se cubrieron con plástico negro durante 15 días y se dejaron dentro del invernadero, se proporcionó riego cada 2 días y se mantuvieron las plantas en las bandejas hasta los 40 días, para finalmente ser trasplantadas a las macetas.

Desarrollo del ensayo

Se colocaron 7 Kg de suelo homogenizado por maceta. En total se utilizaron, 32 macetas de 8 L de capacidad y se colocaron sobre cuatro mesas dentro del invernadero. Se trasplantaron las plantas de caña de azúcar desde las bandejas a las macetas, después de cinco días se aplicó a

cada maceta 1.25 g de muriato de potasio, marca fertisa y 2.14 ml de fertilizante a base de fosfito de potasio, marca Kalex; según la recomendación de fertilización considerando los resultados del análisis de suelo realizado en el laboratorio y la población por hectárea al año, calculados para cada planta.

Después de 10 días de haberse trasplantado las plantas a las macetas, se aplicaron los tratamientos, se midió la altura de las plantas al inicio y posteriormente cada semana hasta los 90 días de siembra. Para evaluar la absorción del N, P y Ca se tomaron muestras de las hojas TVD+1 a los 45 días después de la aplicación de los tratamientos; es decir, a los 90 días de siembra. Finalmente, las plantas se cortaron desde la base, se pesaron y se secaron en la estufa a 105°C hasta obtener peso constante para la determinación de la MS.

3.7 Análisis estadístico

Para la evaluación de la efectividad del nanofertilizante se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) aplicando cuatro tratamientos con ocho repeticiones, haciendo un total de 32 unidades experimentales. Posteriormente con el objetivo de establecer posibles diferencias entre la concentración de fertilizantes (incluido el nanofertilizante), al igual que con la altura de planta semanal, se realizó un análisis de varianza a una vía, luego de establecer el cumplimiento de normalidad (Shapiro Wilk) y homocedasticidad (Levene). Se realizaron pruebas a posteriori mediante el método Tukey (Zar, 1998; Sheskin, 2004).

Capítulo IV: Resultados y discusión

4.1 Elaboración

Al finalizar la mezcla completa de las disoluciones se obtuvieron las suspensiones UR-HAP-1 y UR-HAP-2, de color blanco lechoso (figura 8a y 8b), la cual se dejó reposar durante 24 horas en refrigeración con la finalidad de que precipitaran las partículas de mayor tamaño, para después realizar la centrifugación. El total de partículas que precipitaron durante el reposo de la muestra UR-HAP-2 fue del 1.15% del peso total.

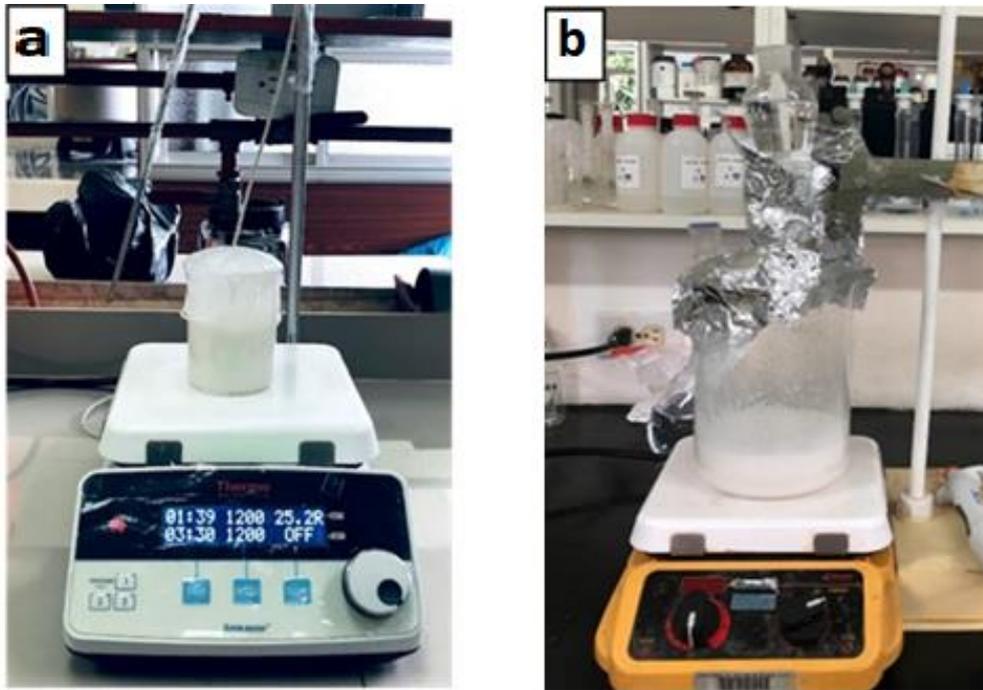


Figura 8. (a) Producto en suspensión realizado en el LB-1, (b) Producto en suspensión realizado en el LB-2.

Durante la centrifugación precipitó un 6.8% del peso total del UR-HAP-2 (figura 9), y así, la pérdida total por precipitación fue del 8.0%; obteniéndose como producto en suspensión final un 92.0% del rendimiento teórico calculado estequiométricamente. Cabe recalcar, que en relación solo de las NPs de HAP formadas, la precipitación corresponde al 74% aproximadamente.



Figura 9. Producto en suspensión antes y después de la centrifugación.

El NF-UR-HAP obtenido al final fue un polvo blanco, ligeramente higroscópico, debido a las características de la urea (figura 10).

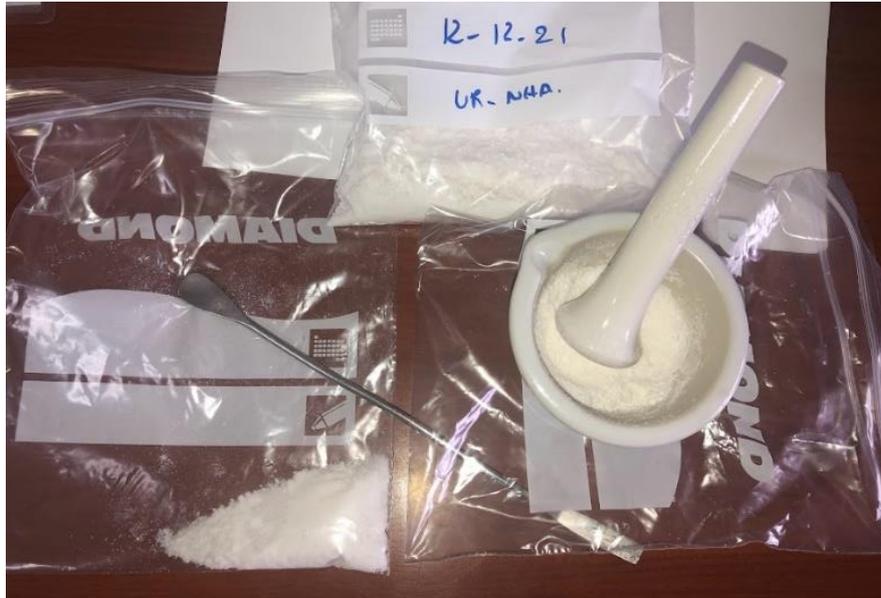


Figura 10. Nanofertilizante urea-hidroxiapatita (UR-HAP)

Durante la reacción los parámetros controlados fueron: la velocidad con la que se adicionó el H_3PO_4 0.6 M, la velocidad de agitación y el pH de la suspensión. Se trabajó a temperatura ambiente (23-28 °C), debido a que por encima de los 60°C se podrían formar cristales policristalinos de mayor tamaño, como lo indica Ferraz et al. (2004).

El tamaño de las NPs de HAP es altamente afectado por la velocidad de adición del H_3PO_4 0.6 M, afectando al pH final de la suspensión (Ferraz et al., 2004). Valdivieso (2020) mostró en sus resultados que la HAP estequiométricamente se sintetiza mejor a valores de pH entre 11 y 12. Al iniciar la reacción el pH de la suspensión que contenía $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y urea fue de 12.8 y al finalizar la adición del H_3PO_4 0.6 M, el pH en la suspensión fue de 12.3. La cantidad de H_3PO_4 0.6 M adicionado no fue exactamente la estequiométrica, debido a que el pH bajaba hasta valores menores a 10, la mezcla se mantuvo hasta que el pH empezara a disminuir bruscamente. Según García et al., (2006) y Valdivieso (2020) los iones PO_4^{3-} son más estables en un pH alto, disminuyendo su solubilidad y con la presencia de OH^- se favorece la precipitación de fosfatos de calcio hidratados.

4.2 Caracterización del nanofertilizante

4.2.1 Difracción XRD

La muestra enviada al Instituto Nacional de Patrimonio Cultural fue identificada como HAP, el difractograma exhibe picos con valores de distancia entre planos consecutivos (d) característicos para hidroxiapatita en d : 3.5; 3.2; 3.1; 2.8; 2.7; 2.6; 2.2; 1.9; 1.8 y 1.7 (figura 11), así como lo indica en su estudio Alban et al. (2020).

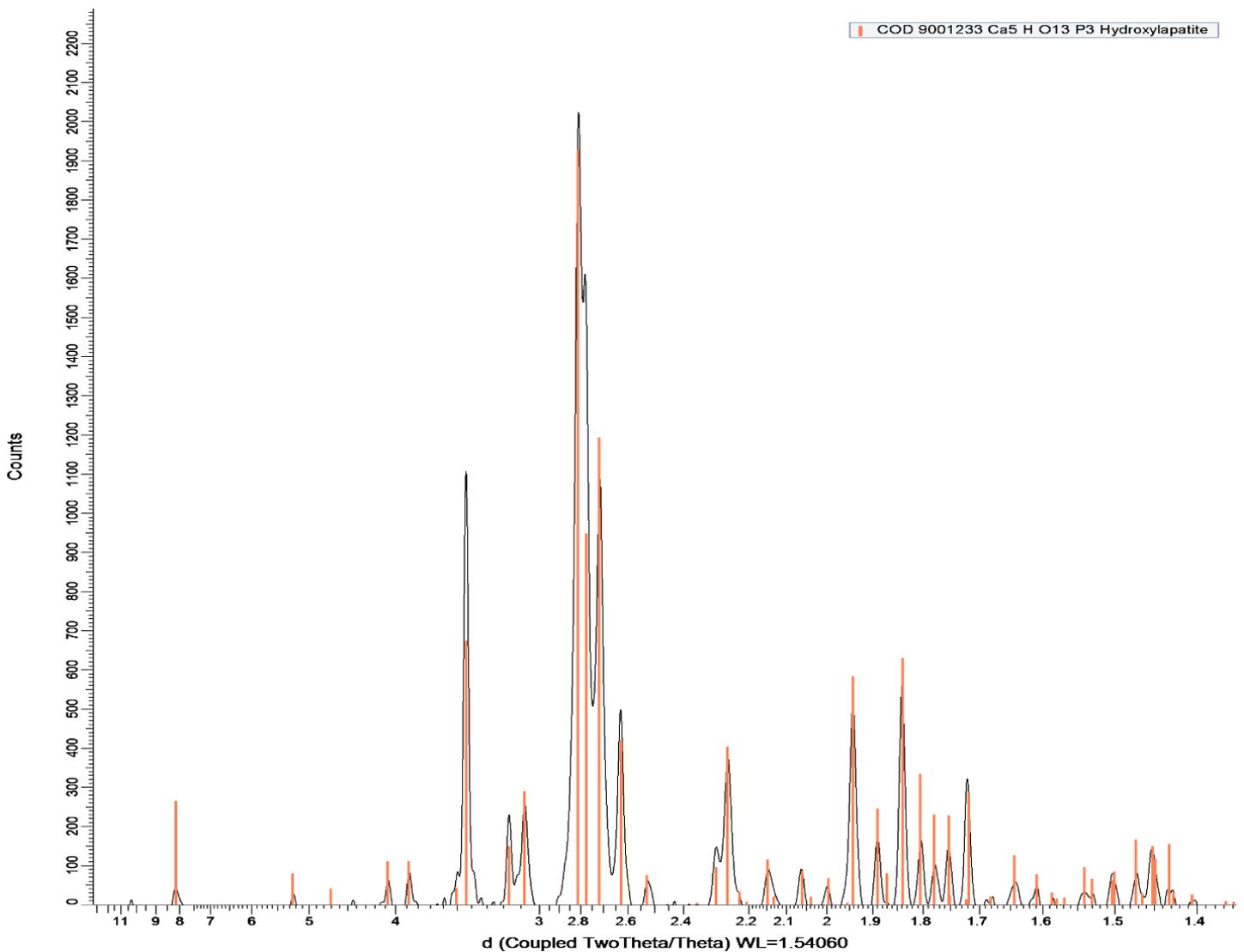


Figura 11. Difractograma de rayos X de la muestra HAP sin urea. Tamaño de partícula

4.2.2 Determinación del tamaño hidrodinámico mediante la técnica DLS

El resultado de cada lectura se expresa por el promedio de los diferentes tamaños de partículas que presentan las muestras. En UR-HAP-1 la lectura R₁ determinó tamaños entre 119 y 514 nm; en la lectura R₂ aparecieron entre 40 y 1967 nm y en la lectura R₃ tamaños entre 105 y 946 nm. En la muestra UR-HAP-2 las tres lecturas determinaron tamaños entre 105 y 315 nm (figura 12). Adicional a esto, el valor promedio del IP en la muestra UR-HAP-1 es más alto que en la muestra UR-HAP-2.

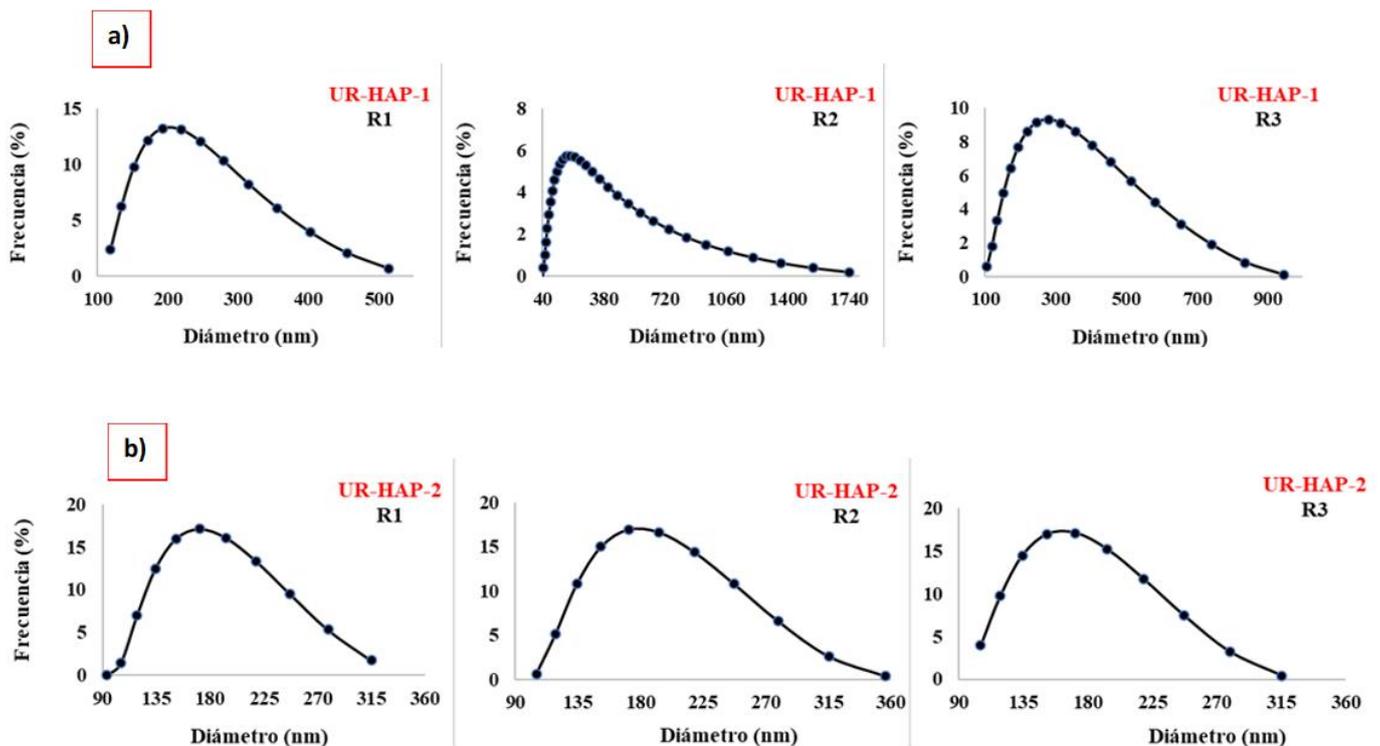


Figura 12. Distribución de los tamaños de partículas en las muestras: a) UR-HAP-1; b) UR-HAP-2, obtenidos por DLS.

Los valores obtenidos en la muestra UR-HAP-1 presentan tamaños de partículas menos uniformes y más dispersos; entre 40 y 1967 nm, con un promedio de 163.9 nm; comparados con la UR-HAP-2 que obtuvo valores entre 105 y 315 nm, con un promedio de 158.7 nm; esto justifica que el IP de la muestra UR-HAP-1 sea de 0.526, mayor que en UR-HAP-2 que fue de 0.302 (cuadro 3). Este resultado podría deberse a que la muestra elaborada en el LB-1

contiene 50% más de urea que la que se formuló en el LB-2. De acuerdo con esto, Guialab (2018) afirma que valores mayores de 0.7 indica que es una muestra con una distribución amplia y que no podría ser analizada bajo la técnica DLS.

Cuadro 3. Valores medios del tamaño hidrodinámico e IP obtenidos por DLS de la muestra UR-HAP -1 y UR-HAP -2.

N° de lecturas	Media del tamaño hidrodinámico (nm)		Índice de Polidispersidad (IP)	
	UR-HAP-1	UR-HAP-2	UR-HAP-1	UR-HAP-2
R ₁	166.7	159.6	0.431	0.125
R ₂	159.7	155.8	0.572	0.386
R ₃	165.4	160.8	0.576	0.395
PROMEDIOS	163.9	158.7	0.526	0.302

UR-HAP-1: hidroxiapatita con urea en suspensión (LB-1); UR-HAP-2: hidroxiapatita con urea en suspensión (LB-2).

Gómez (2018) obtuvo Nps de HAP con un tamaño medio de 442,3 nm, a partir de la cáscara de huevo con ácido nítrico concentrado, ácido cítrico e hidrogenofosfato de diamonio, con el método de combustión simple, utilizando el mismo analizador Horriba SZ-100. Bahamonde (2017) reportó tamaños de 407.3 nm, con el mismo método que usamos, con la diferencia que ellos midieron el tamaño en el precipitado, lavado con etanol y filtrado al vacío.

Monroy (2019) también sintetizó Nps de HAP utilizando el método de precipitación con ayuda de una bomba peristáltica, manteniendo la temperatura en 80°C y el pH en 11 durante todo el proceso, regulado con hidróxido de potasio. Los tamaños reportados fueron: 72.27, 127.6 y 137.5 nm.

Los tres autores sintetizaron NPs de HAP sin ninguna modificación en su superficie, por lo que la urea incorporada podría alterar los tamaños. Por otra parte, Monroy (2019) logró obtener menores tamaños, que podría ser por el uso de la bomba peristáltica, considerando que, la velocidad con que se incorpora el H₃PO₄ es un factor crítico en el desarrollo de las NPs.

4.2.3 Determinación del tamaño de partícula mediante la técnica AFM

En la muestra UR-HAP-1, la imagen AFM obtenida mostro escasas de nanopartículas, debido a la dilución. Se pueden observar partículas en forma de grano, las cuales nos proporciona valores de rugosidad y otros parámetros relacionados con el tamaño de las partículas (figura 13). Los valores en longitud y perímetro no coinciden con el tamaño hidrodinámico obtenido por DLS, lo que sugiere que la matriz se ha modificado. Se pudo observar exceso de urea al secar la muestra antes del análisis; por este motivo se decidió reducir la cantidad de urea utilizada en un 50%. Los granos que se muestran pueden ser pequeños cristales de urea sin HAP.

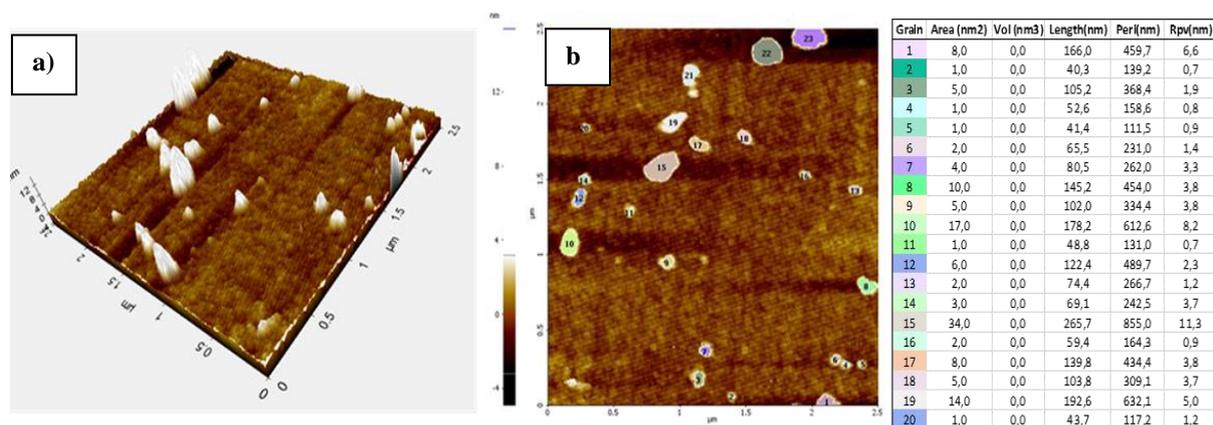


Figura 13. Imagen AFM obtenida de la muestra UR-HAP-1: a) imagen 3D; b) tamaño de grano.

En las imágenes AFM obtenidas de la muestra UR-HAP-2, se observó una mejor correlación con los resultados determinados por DLS. El tamaño individual fue determinado en 107 y 117 nm; y, los tamaños de grano muestran una longitud y rugosidad media de 361 y 27 nm, respectivamente (figura 14). Debido a que se redujo el 50% la cantidad de urea; y a que no se diluyó la muestra, se pudo observar gran número de partículas en forma de granos, con mayor rugosidad, lo que sugiere una modificación en la superficie de las nanopartículas, como lo indica Rodríguez (2018).

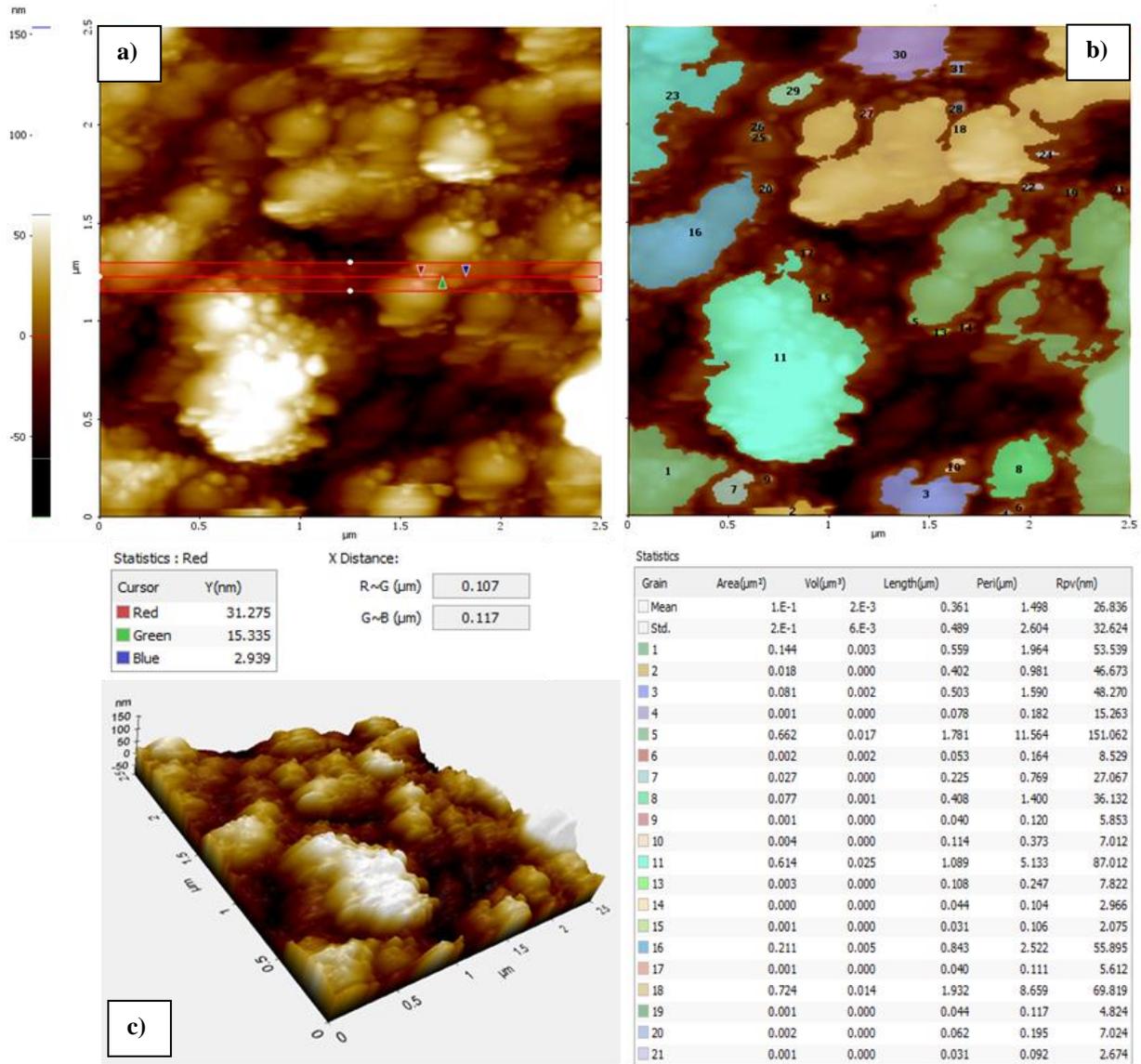


Figura 14. Imagen AFM obtenida de la muestra UR-HAP-2: a) tamaño individual; b) tamaño de grano; y, c) imagen 3D.

Tarafder et al. (2020) elaboró un nanofertilizante híbrido Urea-HAP, utilizando el método de precipitación humedad, con la diferencia que no incorporó la urea en la reacción, haciendo un tratamiento por separado. Para medir el tamaño de partícula utilizó Microscopía Electrónica de Barrido, SEM por sus siglas en inglés, determinando tamaños medios de 38.21 nm. Según Afonso et al (2020), la tecnología SEM es más cara, ya que la muestra necesita un tratamiento previo y se necesita de vacío; y, a pesar de que ofrece imágenes con más detalles,

la técnica AFM muestra imágenes en 3D y valores de rugosidad, y la otra no, siendo más útil para fines de investigación.

Kottegoda et al. (2017) obtuvo imágenes del nanofertilizante híbrido Urea-HAP que desarrollaron mediante las técnicas de Microscopía de barrido (SEM) y de Transmisión, TEM por sus siglas en inglés. Ellos reportaron que las NPs de HAP tenían forma de varilla con diámetros desde 15 a 20 nm y longitudes de 100 a 200 nm, determinadas mediante TEM. Al mismo tiempo, las imágenes SEM indicaban que inicialmente se formaban nanoesferas de 5 nm.

4.2.4 Potencial zeta

La muestra UR-HAP-1 reporta un valor medio más alto, comparado con la muestra UR-HAP-2 (cuadro 4). Villafuerte et al. (2008) y Mayoral et al. (2014) manifiestan que valores de potencial z entre ± 30 mV o mayores proporcionan estabilidad a las suspensiones coloidales; en esta forma, evitan la agregación de las partículas. Se puede interpretar que la muestra obtenida en el LB-1 (con potencial z de 38.3 mV), es más estable en suspensión, reduciendo la agregación; esto puede deberse a que contiene el doble de urea que la muestra elaborada en el LB-2 (con potencial z de 18.8 mV), cuyo valor indica que tiende a la agregación y precipitación de las partículas.

Cuadro 4. Potencial Z de las muestras UR-HAP-1 y UR-HAP-2.

Repetición	Potencial Z (mV)	
	UR-HAP-1	UR-HAP-2
R1	42.7	20.8
R2	36.0	17.7
R3	36.1	17.8
PROMEDIO	38.3	18.8

4.2.5 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El espectro FTIR obtenido en la muestra de NPs de HAP presenta una banda típica que la caracteriza, ubicada en 1030 cm^{-1} (figura 15 a). Según Elhassani et al, (2019) la presencia de bandas intensas entre 1090 y 1020 cm^{-1} se atribuyen al estiramiento de los grupos fosfatos

(PO_4^{3-}). El espectro FTIR de la urea exhibe bandas de estiramiento típicas, como: el N-C-N que se observa en 1458 cm^{-1} , el N-H ubicado en 1587 cm^{-1} , el grupo C=O aparece en 1675 cm^{-1} y el NH_2 en 3426 y 3332 cm^{-1} (figura 15 b) (Kottegoda et al. 2017 y Elhassani et al, 2019).

Los espectros FTIR obtenidos de las muestras UR-HAP-1 y NF-UR-HAP presentan bandas características de HAP, ubicadas en 1030 y 1026 cm^{-1} respectivamente; la variación de 4 cm^{-1} podría deberse a la modificación en la proporción de urea utilizada en el proceso, en el segundo caso. Los picos de estiramiento N-C-N aparecieron en 1454 y 1451 cm^{-1} ; respectivamente, en ambos casos las bandas se muestran levemente desplazadas con valores más bajos, con respecto a la urea sola; siendo la banda menor la del NF-UR-HAP. Los estiramientos N-H aparecen en 1587 y 1590 cm^{-1} respectivamente; la muestra UR-HAP-1 mostró la misma banda presente en la de urea y la NF-UR-HAP mostró un pequeño desplazamiento de 3 cm^{-1} más abajo. Las bandas de estiramiento C=O aparecieron en 1678 cm^{-1} para la muestra UR-HAP-1 y 1675 cm^{-1} en la muestra NF-UR-HAP; en este caso esta mostró la misma ubicación que la urea. Por último, las bandas de NH_2 aparecieron en 3429 y 3329 cm^{-1} para ambas muestras, presentando un leve desplazamiento en ambos picos que los aproxima (figura 15 c y d).

Los resultados FTIR obtenidos concuerdan con los datos reportados por Kottegoda et al. (2017) y Tarafder et al. (2020), los fertilizantes obtenidos en ambos estudios tenían la misma composición química y presentaban bandas de estiramiento con ubicaciones aproximadas. De acuerdo con esto, podemos concluir que la urea y las NPs de HAP están unidas por medio de sus grupos carbonilo y amina. Según Elhassani et al, (2019) los desplazamientos en las bandas de los grupos N-H y NH_2 que presentaron las muestras UR-HAP-1 y NF-UR-HAP, en comparación con la urea sola, sugiere la presencia de bandas de enlace de hidrógeno entre los grupos N-H de la urea y los grupos O-H en la HAP.

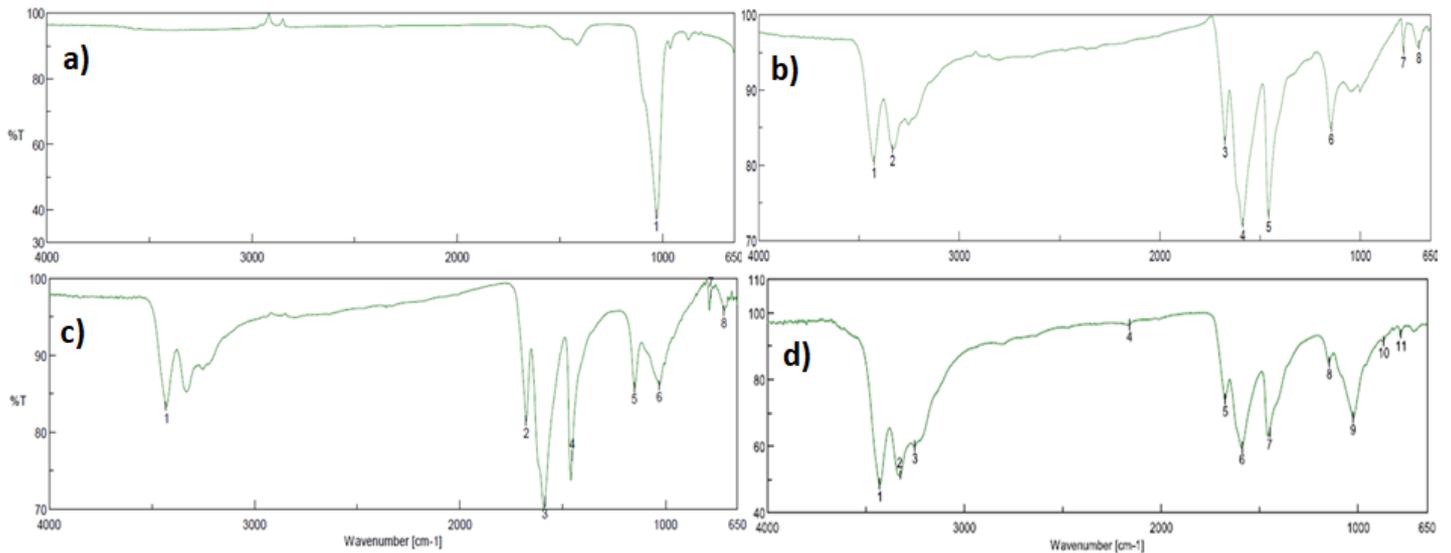


Figura 15. Espectros FTIR de a) NPs HAP, b) urea, c) UR-HAP-1, d) NF-UR-HAP

4.2.6 Contenido de calcio, fósforo y nitrógeno

Las concentraciones de N, Ca y P; así como el cálculo de la relación molar Ca/P obtenidos en las muestras, se reportan en el cuadro 5. Según Ferraz et al. (2004) la relación molar Ca/P en la hidroxiapatita es 1.67; por lo tanto, en base a la obtenida de 1.68, se puede concluir que se logró sintetizar hidroxiapatita pura utilizando el método de precipitación en medio húmedo con H_3PO_4 e $Ca(OH)_2$. Por otra parte, si se considera la relación 1:6 urea-hidroxiapatita que se propuso; los contenidos estequiométricos serían: N= 39.43%, Ca= 5.70% y P= 2.64%; y, una relación molar teórica Ca/P= 2.16. En comparación con las cantidades del NF-UR-HAP reportadas en el cuadro 5 se puede concluir que el NF-UR-HAP se formó con una relación 1:9, debido a que durante el reposo y la centrifugación precipitaron aproximadamente el 74% de NPs de HAP formadas. El NF-UR-HAP tuvo una concentración de N, Ca y P de 38.26%, 3.73% y 1.67% respectivamente; 7.7% menor de N que la urea, pero mayor que otros fertilizantes como: nitrato de amonio NH_4NO_3 con 34%, el sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$ con 21%, el fosfato diamónico (DAP) $(NH_4)_2HPO_4$ con 18%, y el fosfato monoamónico (MAP) $NH_4H_2PO_4$ con un 12% de N.

Cuadro 5. Contenidos de calcio (Ca), fósforo (P) y nitrógeno (N); y la relación molar Ca/P de las muestras obtenidas en la elaboración del nanofertilizante urea – hidroxiapatita (NF-UR-HAP)

Muestra	N	Ca	P	Relación molar Ca/P
		%		
HAP	-	28.30	13.00	1.68
UR-HAP-1	15.10	1.55	0.60	2.00
UR-HAP-2	7.38	0.79	0.35	1.74
NF-UR-HAP	38.26	3.73	1.67	1.73

HAP: hidroxiapatita sin urea en polvo; UR-HAP-1: hidroxiapatita con urea en suspensión (Universidad Central); UR-HAP-2: hidroxiapatita con urea en suspensión (CINCAE); NF-UR-HAP: nanofertilizante urea – hidroxiapatita

4.1.2 Evaluación de la efectividad del nanofertilizante

Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk en los datos obtenidos de las 32 macetas para las variables en estudio: N, P, Ca, MS y crecimiento (CREC) total, desde la aplicación de los tratamientos hasta los tres meses de evaluación. Igualmente se hizo el análisis de homocedasticidad de Levene. Ambas pruebas reportaron datos normales y homogéneos, con un valor de $p > 0.05$ (cuadro 6).

Cuadro 6. Prueba de normalidad (Shapiro Wilk) y homocedasticidad (Levene) en los datos obtenidos de N, P, Ca, MS y CREC, evaluados en caña de azúcar bajo condiciones de invernadero.

Variable	P (Unilateral D)	
	Shapiro Wilk	Levene
N	0.59	0.16
P	0.32	0.89
Ca	0.22	0.60
MS	0.83	0.63
CREC	0.15	0.15

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza a una vía, comparando las medias utilizando una prueba Tukey; con un nivel de significancia $P \leq 0.05$, la cual nos permitió determinar las diferencias que pudiera existir entre los cuatro tratamientos, el testigo y las tres dosis del NF-UR-HAP. La prueba realizada (cuadro 7) mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro tratamientos para las variables: N, P, MS y CREC; Para la concentración de calcio, el promedio del tratamiento 3 (NF-UR-HAP 50%) se comportó estadísticamente diferente de los otros. Por lo tanto, se puede concluir que los cuatro tratamientos aportan la cantidad necesaria de nitrógeno para que las plantas de caña de azúcar se desarrollen adecuadamente hasta los 3 meses de edad, confirmándose así la hipótesis planteada inicialmente. Considerando las condiciones de invernadero, con variaciones de temperatura entre 21 y 33°C y de humedad relativa entre 63 y 100%, el tipo de suelo utilizado en el ensayo (Arenoso-Franco) y la variedad de caña de azúcar sembrada (ECU-01), aplicando el 25% de la dosis recomendada para esta variedad (120 kg N ha⁻¹) (Castillo et al., 2007), se determinó estadísticamente la misma concentración de nitrógeno en las hojas, cantidad igual de materia seca formada y crecimiento sin diferencias significativas; comparados con el testigo (urea 100 %), hasta los 3 meses de edad de las plantas.

Cuadro 7. Análisis de varianza y diferencia estadística (método Tukey) de las variables en estudio en los cuatro tratamientos, evaluados en caña de azúcar bajo condiciones de invernadero.

N°	Tratamientos	N	P	Ca	MS	CREC
		%				cm
T1	Testigo - urea 100 %	2.11 ±0.13 a	0.157 ±0.02 a	0.317 ±0.07 a	4.68 ±1.08 a	17.15 ±1.23 a
T2	NF-UR-HAP 75%	2.08 ±0.15 a	0.159 ±0.02 a	0.329 ±0.05 a	4.43 ±0.90 a	17.10 ±2.04 a
T3	NF-UR-HAP 50%	2.27 ±0.12 a	0.165 ±0.01 a	0.375 ±0.06 b	4.71 ±0.84 a	17.63 ±2.63 a
T4	NF-UR-HAP 25%	2.17 ±0.23 a	0.172 ±0.01 a	0.317 ±0.02 a	5.29 ±1.31 a	19.64 ±3.24 a

MS: materia seca; CREC: crecimiento.

Misma letra junto a los datos, muestra que son estadísticamente iguales.

En otros estudios de fertilización para la variedad ECU-01 efectuados por Salazar & Sanchez., (2010) y Salazar et al., (2013) determinaron que la mayor respuesta de producción se observó a una dosis de 141 kg N ha⁻¹. Según Salazar et al., (2013), las cantidades necesarias de nitrógeno para la producción comercial de caña de azúcar son consideradas altas, en virtud de la gran cantidad de biomasa que las plantas producen bajo las condiciones ambientales de la Cuenca Baja del Río Guayas.

A pesar de que estadísticamente no se encontró diferencias entre los tratamientos, se pudo observar un ligero incremento en la concentración de N en los tratamientos 3 y 4; igualmente la MS y el CREC se mostraron relativamente mayor en el Tratamiento 4, a pesar de que son las dosis más bajas. Considerando que el NF-UR-HAP está formado por urea unida mediante enlace por puente de hidrógeno a nanopartículas de HAP, permitiría que se comporte como un fertilizante de liberación lenta, como lo indican los estudios realizados por Kottegoda et al. (2017); Hernández et al.; Rojas & Luque; y Echevarría-Hernández et al., (2020). Esta característica explicaría que en el tratamiento 4, a una dosis de 30 kg N ha⁻¹, se hayan desarrollado más las plantas con menos cantidad de NF-UR-HAP, aumentando de esta manera la eficiencia del uso del fertilizante (Echevarría-Hernández et al., 2020) se obtendría un ahorro del 75% de urea. Adicionalmente se sabe que el N es bastante móvil en la planta, pudiéndose distribuir o translocar con la edad del cultivo (Perdomo et al., 2003); por lo tanto, se justificaría que el tratamiento 4 fue el que desarrollo más MS, pero no, la mayor concentración de N en las hojas; este se podría haber distribuido hacia los tallos, los cuales tenían mayor altura.

Kottegoda et al. (2017) realizó la evaluación de la biodisponibilidad de los nanohíbridos de urea-HAP de liberación lenta en un cultivo de arroz, en campo de granjas certificadas en Asia del sur. Ellos determinaron que mediante el uso de nanohíbridos urea-HAP, se puede ahorrar hasta el 50 % en el consumo de urea.

Con respecto a las concentraciones de P y Ca, sabiendo que la HAP es insoluble el agua (Chávez, 2012), no se esperaría un aporte nutricional de este elemento por parte de la HAP; pero, considerando que las características de los materiales cambian con respecto al tamaño de las partículas, se decidió evaluar la absorción del P y Ca en las hojas. El análisis de

varianza, igual que con el N, no mostró diferencias significativas, excepto para el Ca en el tratamiento 3 que incrementó su valor. Aunque se puede observar un ligero incremento progresivo del P entre los tratamientos 2, 3 y 4 con NF-UR-HAP. En el caso del Ca, este incremento solo se puede observar en los tratamientos 2 y 3.

La evaluación de la altura de planta semanal se muestra en la figura 16, en la que se puede observar que las plantas del tratamiento 4 fueron las que más se desarrollaron, empezando con un valor promedio en altura menor a los otros tratamientos (8.4 cm) y finalizando con el valor más alto (28.0 cm), seguido del tratamiento 3.

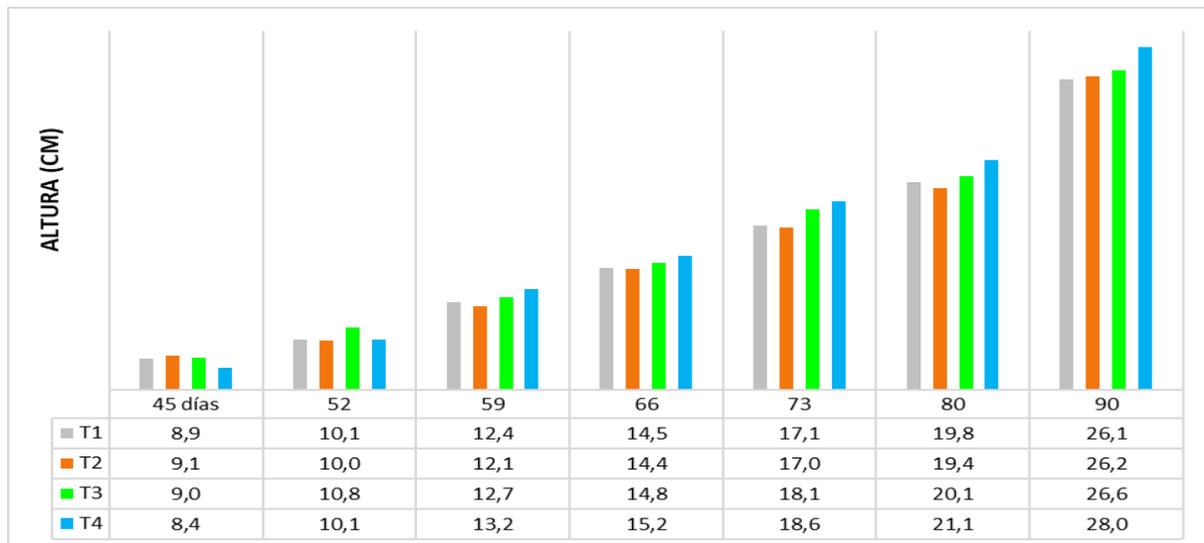


Figura 16. Valores promedio de altura semanal en las plantas desde la aplicación de los cuatro tratamientos hasta los 90 días de edad, evaluados en caña de azúcar bajo condiciones de invernadero.

Haciendo el análisis de los beneficios que se pueden obtener reduciendo las dosis de urea como fertilizante nitrogenado en los cultivos, adicionalmente a la reducción de la contaminación del suelo, el agua y la atmosfera, los cuales ya serian un aporte importante para el planeta; también se puede considerar el costo del fertilizante como un factor de alto interés para el productor y agroindustria. Evaluando las condiciones actuales de importaciones de fertilizantes, debido a los conflictos y guerras entre países productores de estos insumos, en el caso de la urea el precio se ha incrementado desde \$38 el saco de 50 Kg en 2021 a \$53 en 2022 (Tapia, 2022).

Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones

4.3 Conclusiones

- Se obtuvo el NF-UR-HAP utilizando el método de precipitación en medio húmedo con H_3PO_4 e $\text{Ca}(\text{OH})_2$, con un rendimiento del 92%. Los tamaños de partículas y la agregación se vieron afectados por el pH y la velocidad de adición del H_3PO_4 . En consecuencia, la relación 1:6 de HAP: UREA, planteada inicialmente, no se logró obtener, debido a que durante la precipitación, en el tiempo de reposo y centrifugación, precipitó el 74% de HAP formada en la reacción. Obteniendo al final el NF-UR-HAP en relación 1:9, concentración de N del 38.26%, Ca del 3.73% y P del 1.67%.
- El Difractograma XRD de la muestra de HAP presentó picos (d) característicos que la identificaron; mientras que, el espectro FTIR mostró una banda de absorción en 1030 cm^{-1} , propio del grupo PO_4^{3-} . Por otra parte, el espectro FTIR obtenido del NF-UR-HAP expuso perfectamente bandas que corresponden a los grupos: PO_4^{3-} , N-C-N, N-H, C=O y NH_2 ; característicos de la HAP y la urea. Adicionalmente, los desplazamientos en las bandas de los grupos N-H y NH_2 sugiere la presencia de enlace de hidrógeno entre los grupos N-H de la urea y los O-H en la HAP.
- El tamaño medio hidrodinámico obtenido por DLS fue de 158.7 nm, con un IP de 0.302; este valor es comparable con el tamaño de partícula del NF-UR-HAP, determinado mediante AFM, el cual se determinó en 107 y 117 nm. Por otra parte, el valor del potencial z en la muestra UR-HAP-2 fue 18.8 mV., lo que indica que la suspensión es ligeramente inestable y tiende a la agregación.
- El análisis de varianza realizado a los resultados obtenidos en el ensayo de invernadero mostró que no existen diferencias significativas entre los tratamientos para todas las variables de estudio, excluyendo al Ca. De esta manera se demostró que aplicando el 25% de la dosis recomendada (30 kg N ha^{-1}) del NF-UR-HAP elaborado, fue suficiente para el buen desarrollo de las plantas de caña de azúcar hasta los tres meses de edad, confirmando de esta manera la hipótesis planteada en esta investigación.

4.4 Recomendaciones

- El uso de una bomba dosificadora durante la elaboración del nanofertilizante, para poder controlar la velocidad con la que se adiciona el H_3PO_4 0.6M, mejoraría la homogeneidad y podría reducir el tamaño de las partículas de HAP formadas.
- Durante el tiempo de reposo y en la centrifugación de la suspensión precipitó la mayor parte de NPs de HAP, las cuales no fueron caracterizadas; en virtud de que, su tamaño pudiera ser mucho mayor. En consecuencia, la relación de urea aumentó. Se recomendaría la caracterización del precipitado y su incorporación en la mezcla como parte del nanofertilizante; y de esta forma, evaluar así su efectividad.
- La evaluación hasta los tres meses de edad deja dudas con respecto al comportamiento de los tratamientos, sobre todo el T2, el cual era el que contenía más N (90 kg N ha^{-1}). Considerando el comportamiento de liberación lenta del NF-UR-HAP, sería importante repetir el ensayo hasta los 12 meses de edad, en condiciones de campo abierto y evaluando las toneladas de caña por hectárea (TCH) y los Kg de azúcar por tonelada de caña (KAzTC) para determinar el rendimiento.
- Considerando los precios de los reactivos de alta pureza, con la finalidad de abaratar costos en la elaboración, se podría intentar utilizar cal apagada como materia prima (Ca(OH)_2) y, evaluar los parámetros de producción y rendimiento.

Referencias bibliográficas

- Afonso, E., Martínez-Gómez, P., Tiemblo, P., & García, N. (2020). La perfilometría óptica como técnica de caracterización topográfica no destructiva y sin contacto.
- Alban, M. J., Bonilla, P., & Jiménez, P. (2020). Dentinal tubules occluding by nanohydroxyapatite obtained from eggshell in colloidal system.
- Andrade, F.H., (2016). Los desafíos de la agricultura. International Plant Nutrition Institute, Buenos Aires, Argentina.
- Andreu Lahoz, J., Betrán Aso, J., Delgado Enguita, I., Espada Carbó, J. L., Gil Martínez, M., Gutiérrez López, M., ... & Yagüe Carrasco, M. R. (2006). Fertilización nitrogenada: guía de actualización.
- Atkins, P. W., Overton, T., Rourke, J., Weller, M. & Armstrong, F. (2008). SHIVER & ATKINS Química inorgánica 4ta edición. Mcgraw Hill. México.
- Avalos, C., & Castro, J. (2017). Pérdidas de nitrógeno por volatilización en un sistema de producción de sorgo usando dos fuentes nitrogenadas y dos métodos de aplicación [UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA]. In Tesis de pregrado. <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/8048>
- Bahamonde Soria, C. D. P. (2017). Sellado de túbulos dentinarios con una pasta dental con nanopartículas de hidroxiapatita. Estudio in-vitro (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Barbieri, P. A., Echeverría, H. E., Saíñz Rozas, H. R., & Maringolo, M. (2010). Fertilización de maíz con urea de liberación lenta: pérdida por volatilización y eficiencia de uso de nitrógeno. Ciencia del suelo, 28(1), 57-66.
- Borja Vivero, J. F., & Valdivia Álvarez, R. (2015). Introducción a la agronomía. (Universidad Central del Ecuador, Ed.) (Versión 1.). Quito, Ecuador: EDIMEC, Ediciones Médicas CIEZT.
- Bruulsema, T. W. (2013). 4R de la nutrición de plantas: un manual para mejorar el manejo de la nutrición de plantas (No. 581.13). International Plant Nutrition Institute.

- Cabrera, J. A., & Zuaznábar, R. (2010). Impacto sobre el ambiente del monocultivo de la caña de azúcar con el uso de la quema para la cosecha y la fertilización nitrogenada. I. Balance del carbono. *Cultivos tropicales*, 31(1).
- Cajaleon Calixto, C. C., & Concepcion Motta, D. R. (2018). Determinación de la concentración de arsénico y mercurio por espectrofotometría de absorción atómica en peces procedentes del mar de Huacho y Chorrillos.
- Castellanos, R. J. Z., CUETO, W., Macías, J., Salinas, G. J. R., Tapia, V. L. M., Cortés, J. J. M., ... & Enríquez, R. S. A. (2005). La fertilización en los cultivos de maíz, sorgo y trigo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Guanajuato, México.
- Castillo, R., Gómez, A., & Garcés, F. (2003). Multiplicación masiva de semilla sana en variedades de caña de azúcar mediante cultivo de tejidos vegetales. *Publicación técnica*, (1).
- Castillo, R., Silva, E. Caicedo, W., Romero, H., Martínez, F., Garcés, F., Mendoza, J. and Aucatoma, B. (2007). ECU-01 (ECSO98-169): Primera Variedad de Caña de Azúcar Mejorada del Ecuador. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador. *Boletín Técnico* s/n. 7 p.
- Chávez, S. D. (2012). Síntesis y caracterización de fosfatos de calcio por el método sol-gel (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Asunción).
- Chien, S., Gearhart, M., & Collamer, D. (2009). Acidez generada por los fertilizantes nitrogenados: Nueva evaluación de los requerimientos de cal. *Informaciones Agronómicas*, 41, 16–17.
- Coba, A. (2018). Impacto en las importaciones de fertilizantes en el Ecuador: Caso EMDA CIA [UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL]. [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/35695/1/TESIS ANDRES COBA VILLAVICENCIO SEPTIEMBRE.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/35695/1/TESIS_ANDRES_COBA_VILLAVICENCIO_SEPTIEMBRE.pdf)

- Coombs, J., Hind, G., Leegood, R. C., Tieszen, L. L., & Vonshak, A. (1985). Analytical techniques. In *Techniques in bioproductivity and photosynthesis* (pp. 219-228). Pergamon.
- Díaz, A., Gebler, L., Maia, L., Medina, L., & Trelles, S. (2017). Buenas prácticas agrícolas para una agricultura resiliente: una visión integradora: documento técnico.
- Echevarría-Hernández, A., Wong-Corral, F. J., Borboa-Flores, J., Rodríguez-Félix, F., Toro-Sánchez, C. L. D., & García-Hernández, J. L. (2020). Sistema de liberación prolongada de urea en polvo con potencial uso en la agricultura sustentable. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 7(2).
- Elhassani, C. E., Essamlali, Y., Aqlil, M., Nzengué, A. M., Ganetri, I., & Zahouily, M. (2019). Urea-impregnated HAP encapsulated by lignocellulosic biomass-extruded composites: A novel slow-release fertilizer. *Environmental Technology & Innovation*, 15, 100403.
- Estrada-Botello, M. A., Nikolskii-Gavrilov, I., Mendoza-Palacios, J. D., Cristóbal-Acevedo, D., de La Cruz-Lázaro, E., Brito-Manzano, N. P., ... & Bakhlaeva-Egorova, O. (2007). Lixiviación de nitrógeno inorgánico en un suelo agrícola bajo diferentes tipos de drenaje en el trópico húmedo. *Universidad y ciencia*, 23(1), 1-13
- Ferraz, M. P., Monteiro, F. J., & Manuel, C. M. (2004). Hydroxyapatite nanoparticles: a review of preparation methodologies. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics*, 2(2), 74-80.
- Gallardo Valdivieso, K. D. (2019). Caracterización de las tintas de sellos que se encuentran en los libros de los siglos XVII Y XVIII pertenecientes a la Memoria Documental y de Acervo Histórico Patrimonial de la Universidad Central del Ecuador (Tesis de pregrado, Quito: UCE).
- Gallegos, W., Vega, M., & Noriega, P. (2012). Espectroscopía de absorción atómica con llama y su aplicación para la determinación de plomo y control de productos cosméticos.

- García, C., Paucar, C., & Gaviria, J. (2006). Estudio de algunos parámetros que determinan la síntesis de hidroxiapatita por la ruta de precipitación. *Dyna*, 73(148), 9-20.
- Ghorbanpour, M., Bhargava, P., Varma, A., & Choudhary, D. K. (Eds.). (2020). *Biogenic nano-particles and their use in agro-ecosystems*. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer.
- Gómez Bedoya, M. G. (2018). Sellado de túbulos dentinarios con un gel desensibilizante con nanopartículas de hidroxiapatita. Estudio in-vitro (Tesis de pregrado, Quito: UCE).
- Guevara Ruiz, L. M. (2019). Actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans* en sistemas adhesivos ortodónticos. Estudio in vitro (Tesis de pregrado, Quito: UCE).
- Guialab (September, 2018). Comprendiendo y desafiando los límites de la técnica DLS. Argentina. Recuperado de: <https://www.guialab.com.ar/notas-tecnicas/comprendiendo-y-desafiando-los-limites-de-la-tecnica-dls/>
- Hakeem, K. R., & Pirzadah, T. B. (Eds.). (2020). *Nanobiotechnology in Agriculture: An Approach Towards Sustainability*. Springer.
- Hernández, M. A. C., de Jesús, E. R., Quevedo, A. N., Flores, M. D. J. P., Martínez, E. S. J., Téllez, L. I. T., & Méndez, M. A. A. (2020). Elaboración De Nanopartículas Con Nitrógeno A Base De Urea Para Uso Agrícola. *Agrociencia*, 54(8), 1031-1041.
- INPOFOS, Instituto de la Potasa y el Fósforo. (1997). *Manual Internacional de Fertilidad de Suelos*.
- Jin, X., Chen, X., Cheng, Y., Wang, L., Hu, B., & Tan, J. (2015). Effects of hydrothermal temperature and time on hydrothermal synthesis of colloidal hydroxyapatite nanorods in the presence of sodium citrate. *Journal of colloid and interface science*, 450, 151-158.
- Kottegoda, N., Sandaruwan, C., Priyadarshana, G., Siriwardhana, A., Rathnayake, U. A., Berugoda Arachchige, D. M., ... & Amaratunga, G. A. (2017). Urea-hydroxyapatite nanohybrids for slow release of nitrogen. *ACS nano*, 11(2), 1214-1221.

- Kulkarni, S. K. (2015). *Nanotechnology: principles and practices*. Springer.
- Lanza, J. G., Churión, P. C., & Gómez, N. (2016). Comparación entre el método Kjeldahl tradicional y el método Dumas automatizado (N cube) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *Saber*, 28(2), 245-249.
- Lengowski, E. C. (2016). *Formação e caracterização de filmes com nanocelulose* (tesis de posgrado). Universidade Federal do Paraná,
- Lopez Choque, M. A. (2020). *Validación del método Kjeldahl para la determinación de nitrógeno total en suelos agrícolas del departamento de La Paz* (Tesis de pregrado), La Paz, Universidad Mayor de San Andrés.
- Marín Pinto, K. E. (2018). *Efecto de la hidroxiapatita en la composición química del esmalte dental posterior a la realización de blanqueamiento dental. Estudio in-vitro* (Tesis de pregrado, Quito: UCE).
- Mayoral, J. B., Moreno, A. C., & Martínez, E. S. M. (2014). Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Latin-American Journal of Physics Education*, 8(4), 19.
- Métodos Oficiales de Análisis de AOAC Internacional. (2012). Fósforo (Total) en Alimentos, Método Colorimétrico. Capítulo 45, Método 995.11., pp. 50-52
- Miñarro, M. D. (2009). *Evaluación de la norma UNE en 14211: 2006 para la medida de óxidos de nitrógeno en aire: propuestas de modificaciones* (tesis doctoral), Universidad de Murcia.
- Monroy Miguel, R. (2019). *Interacción nanopartículas de hidroxiapatita-bacterias solubilizadoras de fosfato en planta de lechuga* (Master's thesis).
- Morales-Morales, E., Rubí-Arriaga, M., López-Sandoval, J., Martínez-Campos, A., & MoralesRosales, E. (2019). Urea (NBPT) una alternativa en la fertilización nitrogenada de cultivos anuales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(8), 1875–1886. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.1732>.

- Moreno-Seceña, J. C., Landeros-Sánchez, C., Vázquez, A. P., Palacios-Vélez, O. L., Chávez, M. D. R. C., & Collado, C. J. L. (2016). Manejo y actitud del productor sobre la fertilización nitrogenada en caña de azúcar: un estudio de caso. *RINDERESU*, 1(1), 26-34.
- Nayak, A. K. (2010). Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview. *International Journal of ChemTech Research*, 2(2), 903-907.
- OEC - El Observatorio de la Complejidad Económica. Abonos Minerales O Químicos Nitrogenados en Ecuador (2019). Recuperado de: <https://oec.world/es/profile/bilateral-product/nitrogenous-fertilizers/reporter/ecu?redirect=true>
- Oliveira, M. W. D., Trivelin, P. C. O., Boaretto, A. E., Muraoka, T., & Mortatti, J. (2002). Leaching of nitrogen, potassium, calcium and magnesium in a sandy soil cultivated with sugarcane. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37, 861-868.
- Palma, R. M., & Segat, A. L. (2000). Nitrógeno del suelo. *Principios de Edafología*. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires, 273-290.
- Panpatte, D. G., & Jhala, Y. K. (2019). *Nanotechnology for Agriculture: Crop Production & Protection*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9374-8>.
- Perdomo, C., Barbazán, M., & Durán, J. (2003). Área de suelos y aguas cátedra de fertilidad nitrógeno. Montevideo, Uruguay.
- Pérez, J., & Serrano Martínez, J. L. (2014). *Cristalografía de rayos X, una historia de cien años*.
- Rai, M., Ribeiro, C., Mattoso, L., & Duran, N. (2015). Nanotechnologies in food and agriculture. In *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7>
- Rivera, J. A., Fetter, G., & Bosch, P. (2010). Efecto del pH en la síntesis de hidroxiapatita en presencia de microondas. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 15, 506-515.

- Rodríguez Ballesteros, I. F. (2018). Estudio de la morfología de nanoestructuras de GaSb por efecto de la disolución de HCl mediante medidas de microscopia SEM. Departamento de Física.
- Rodríguez-Lugo, V., Salado-Leza, D. E., Ortiz, S. L., Mendoza-Anaya, D., Villaseñor-Cerón, L. S., & Reyes-Valderrama, M. I. (2020). Revisión de la Hidroxiapatita Nanoestructurada como Alternativa para Tratamiento de Cáncer. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 8(Especial), 115-127.
- Rojas, C. D. M., & Luque, A. P. (2020). Nanofertilizantes para cereales: situación actual y perspectivas futuras. *Tierras de Castilla y León: Agricultura*, (288), 62-66.
- Royo Díaz, & J. Bernardo. (2004). Repercusión de la pérdida de variabilidad en el material vegetal utilizado en viticultura sobre la adaptación del cultivo y sobre la personalidad de los vinos producidos en las zonas amparadas con D.O. In *Comunicaciones del VI Congreso de la SEAE*. Almería, España. <https://orgprints.org/id/eprint/29751/1/actas-almeria-vd.pdf>.
- Ruiz, E. P., Camacho, I. R., Águila, J. L. B., Díaz, M. L. V., de Armas, E. B., Hernández, F. A., & Martínez, R. M. (2014). La fertilización nitrogenada de la caña de azúcar en un suelo con presencia de hidromorfia. *Centro Agrícola*, 41(3), 11-5.
- Salazar, M. E., & Sanchez, M. A. (2010). Cane and sugar production of the variety ECU-01 with N, P, K, S and micronutrient application in plant cane. In *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol* (Vol. 27, pp. 1-7).
- Salazar, M., Sánchez, M. A., & Castro, D. (2013). Respuesta de la variedad ecu-01 a niveles de N en suelos del orden Inceptisol y Vertisol.
- Saleem, S., Zaman, Q., Schumann, A., Madani, A., Chang, Y., & Farooque, A. (2014). Impact of variable rate fertilization on nutrients losses in surface runoff for wild blueberry fields. *Applied Engineering in Agriculture*, 30(2), 179–185. <https://doi.org/10.13031/aea.30.10346>

- Sánchez Alcivar , G. A. (2020). Análisis de la alternativa del uso de gas natural en el Ecuador para producir urea proveniente del proceso petroquímico del amoníaco. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Sheskin, D. J. (2004). Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures. Washington D.C.: Chapman&Hall.
- Skoog, D., Holler, F., Crouch, S. (2008). Principios de análisis instrumental sexta edición. Cengage Learning Editores, México.
- [Tampieri, A., Celotti, G., Landi, E., Sandri, M., Roveri, N., & Falini, G. \(2003\). Biologically inspired synthesis of bone-like composite: Self-assembled collagen fibers/hydroxyapatite nanocrystals. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 67\(2\), 618-625.](#)
- [Tapia, D. S. \(2022\). ¡Ahora la guerra y los fertilizantes! La dependencia de los mercados globales nos sigue pasando factura.](#)
- [Tarafder, C., Daizy, M., Alam, M. M., Ali, M. R., Islam, M. J., Islam, R., ... & Khan, M. Z. H. \(2020\). Formulation of a Hybrid Nanofertilizer for Slow and Sustainable Release of Micronutrients. ACS omega, 5\(37\), 23960-23966.](#)
- TULAS/TULSMA (2003-2015). Libro VI anexo 1 del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA), Tabla 1, 2, 8 y 12. Recuperado de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf>
- Usabiaga, J., Tostado, F., Benítez, E., & Castro, J. (2005). Estudios de Nutrición Vegetal de los Principales Cultivos Básicos de México.
- Valdivieso Vera, D. A. (2020). Determinación del efecto de la relación molar de Ca/P y Mg/Al en las propiedades ácidas-básicas de catalizadores de hidroxiapatita e hidrotalcita para su potencial uso en la obtención de biocombustibles (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

Villafuerte, L., García, B., de Lourdes Garzón, M., Hernández, A., & Vázquez, M. L. (2008). Nanopartículas lipídicas sólidas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(1), 38-52.

Yang, Y., Lei, T., Du, W., Liang, C., Li, H., & Lv, J. (2020). Substituting chemical fertilizer nitrogen with organic manure and comparing their nitrogen use efficiency and winter wheat yield. *Journal of Agricultural Science*, 158(4), 262–268. <https://doi.org/10.1017/S0021859620000544>

[Zar, J. H. 1998. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.](#)

Zúñiga Cerón, V., & Gandini Ayerbe, M. A. (2013). Caracterización ambiental de las vinazas de residuos de caña de azúcar resultantes de la producción de etanol. *Dyna*, 80(177), 124-131.

Anexos

Cuadros y figuras

Cuadro 8. Resultados del análisis fisicoquímico del suelo utilizado en el ensayo de invernadero.

Parámetro	Unidad	Valor	Método utilizado	Equipo utilizado
Arena	%	81.00	Métodos de Bouyoucos	1
Limo	%	19.00	Métodos de Bouyoucos	1
Arcilla	%	0.00	Métodos de Bouyoucos	1
Textura	-	Arenoso-Franco	Métodos de Bouyoucos	1
M.O	%	0.81	Digestión húmeda con H ₂ SO ₄	2
P	mg kg ⁻¹	7.24	Extracción con Olsen modificado	2
K	meq 100g suelo ⁻¹	0.15	Extracción con Olsen modificado	3
Ca	meq 100g suelo ⁻¹	11.61	Extracción con Olsen modificado	3
Mg	meq 100g suelo ⁻¹	3.24	Extracción con Olsen modificado	3
Zn	mg kg ⁻¹	0.78	Extracción con Olsen modificado	3
Cu	mg kg ⁻¹	4.01	Extracción con Olsen modificado	3
Mn	mg kg ⁻¹	4.13	Extracción con Olsen modificado	3
Fe	mg kg ⁻¹	50.32	Extracción con Olsen modificado	3
S	mg kg ⁻¹	0.66	Extracción con Fosfato de Calcio 0,08 M	2
B	mg kg ⁻¹	0.14	Extracción con Fosfato de Calcio 0,08 M	2
pH	-	7.08	Suspensión con agua	4
C.E	(us cm ⁻¹)	237	Suspensión con agua	4

1. Hidrómetro Densímetro de Bouyoucos; 2. Espectrómetro UV-visible marca Perkin Elmer modelo Lambda 25; 3. Espectrofotómetro de absorción atómica (AA) marca Perkin Elmer modelo AAnalyst 100; 4. Medidor de pH y conductividad digital de Mesa marca Horiba Scientific modelo LAQUA DS-72.

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO



Figura 17. Elaboración del nanofertilizante realizado en el Laboratorio de nanoestructuras de la Universidad Central del Ecuador.



Figura 18. Elaboración del nanofertilizante realizado en el Laboratorio Químico de CINCAE



Figura 19. Selección y tratamiento de la semilla



Germinación de la semilla en bandejas con ceniza



Riego cada 2 días



Trasplante a macetas



Figura 20. Germinación y trasplante a macetas dentro del invernadero



Aplicación de los tratamientos



Muestreo de hojas TVD+1

Corte de las plantas para determinación de biomasa

Figura 21. Desarrollo del ensayo en el invernadero

ECU-01 (ECSP98-169)

Enfermedades

Las evaluaciones para determinar la reacción a las principales enfermedades se realizaron desde el estado I de selección hasta las parcelas semi-comerciales y en ensayos específicos de evaluación de enfermedades. En algunos casos se realizaron inoculaciones artificiales y en otros se sometieron a la infección natural. Los niveles de reacción de esta variedad a las principales enfermedades son:

Carbón (<i>Sclerotinia scitaminea</i>)	Resistente
Mosaico (SCMV)	Resistente
Roya (<i>Puccinia melanocephala</i>)	Resistente
Raquitismo - RSD (<i>Epsomia xyli</i> ssp. <i>xyli</i>)	Susceptible
Escaldadura - LSD (<i>Xanthomonas albifimeas</i>)	Moderadamente Resistente
Hoja amarilla (SCYL)	Moderadamente resistente

Plagas

La variedad ECU-01, es un poco más tolerante que la variedad Ragnar al saltahoja (*Perkinsiella saccharicida*) y al barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*), pero un poco más susceptible al áfido amarillo (*Sipha flava*). El manejo de estas plagas requiere de una evaluación periódica, procurando mantener siempre un equilibrio biológico a través de la conservación y aumento de los enemigos naturales. En lo posible se debe evitar el uso de insecticidas químicos. Una guía para el manejo de estas plagas se puede encontrar en las publicaciones respectivas emitidas por CINCAE.

Suelos y fertilización

En todos los ensayos establecidos la variedad ECU-01, ha tenido una mejor respuesta a la fertilización que la variedad Ragnar. En suelos franco arenosos, francos arcillosos y franco arcillo limosos con contenidos medios de P (10-12 ppm), K (0.2 meq/100g suelo) y bajos de materia orgánica (1.5-2.5%), la producción varió entre 90-110 TCH, 84-113 KATC y 7.5-10.7 TAH en caña planta. Mientras que, en dos socas tuvo un rango de producción de 60-140 TCH, 80-116 KATC y 6.0-12.5 TAH. Estas producciones han sido obtenidas con fertilizaciones comerciales de 80-120 kg N por ha, 60-100 kg P₂O₅ por ha y 80-140 kg de K₂O por ha. Sin embargo, se continúa

buscando los niveles óptimos de N, P, K y microelementos para esta variedad en diferentes tipos de suelos de los ingenios azucareros.

Uso de semilla de buena calidad

Para una mejor respuesta de la variedad se recomienda usar semilla de alta calidad y libre de patógenos sistémicos. Todos los semilleros deben ser diagnosticados para raquitismo, escaldadura y hoja amarilla. Estas evaluaciones servirán para identificar la sanidad y la toma de decisiones sobre el uso de un lote de semillas destinadas a canteros comerciales.



CINCAE
Una división de la
Fundación para la Investigación
Azucarera del Ecuador FIADE

Estación Experimental:
Km. 49.8 Vía Durán-Tambo. El Triunfo
Dirección Postal: Elizalde 114 y Malecón,
Casilla Letra "S" Guayaquil-Ecuador
Tel. (593) 4 2729183/4/5 Ext. 316. (593) 9 9914464,
(593) 9 994637/2 Fax: (593) 9 9882656
e-mail: cincae@cincae.org

Figura 22. Información técnica de la variedad de caña de azúcar ECU-01, suministrada por CINCAE

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!