

Contenido de fósforo en tibia ósea bovina, y potencial del hueso bovino para incrementar el perfil nutricional de suelos agrícolas

Phosphorus content in tibia bovine bone, and potential of bovine bones to increase the nutritional profile of agricultural soils

Sebastián Cestari-Abreu^{*1}  y Saúl Flores² .

GLEBE

E-ISSN: 3103 1234
Volumen 1(1).
Mayo - agosto 2025

APLICACIONES PRÁCTICAS
EN EL MANEJO DEL SUELO
Y FERTILIZACIÓN DE
CULTIVOS

ISBN: 978-9942-7391-6-2

¹Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Centro de Biotecnología Agrícola, Laboratorio de Biofertilizantes y Biocontroladores. Panamericana km 11, Altos de Pipe, Los Salias, Miranda. Venezuela. <https://ror.org/02ntheh91>. sebastian.cestari@gmail.com

²Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Centro de Ecología, Laboratorio de Suelos, Ambiente y Agricultura. Panamericana km 11, Altos de Pipe, Los Salias, Miranda. Venezuela. <https://ror.org/02ntheh91>. jassanflores@gmail.com

*Autor para correspondencia: sebastian.cestari@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.63804/gb.1.1.5>

Resumen

El propósito del trabajo fue determinar el contenido de fósforo total y de fósforo extraíble en agua de una muestra ósea incinerada de tibia bovina sin médula. En cuanto a la extracción del fósforo total, tres digestiones ácidas fueron comparadas, es decir, ácido nítrico y ácido perclórico, ácido clorhídrico y peróxido de hidrógeno, y ácido clorhídrico; la muestra ósea fue incinerada a 800 °C por 8 horas antes de las digestiones en cuestión. Relativo al fósforo extraíble en agua, dos relaciones hueso:agua fueron contrastadas, es decir, 1:100 y 1:200. La masa de fósforo total por masa ósea incinerada seca (DW) fue de $44,177 \pm 0,810$ % P_2O_5 (m/m DW); las tres digestiones ácidas arrojan valores pragmáticamente similares. El contenido de fósforo extraíble en agua por masa seca del material óseo incinerado fue de $0,013 \pm 0,001$ y $0,040 \pm 0,001$ % P_2O_5 (m/m DW) para las razones 1:100 y 1:200, respectivamente; la mayor fracción de fósforo en la relación 1:200, a pesar de ser la alternativa más diluida, podría ser resultado de un impacto menor de este sobre el pH de la mezcla, que podría haber favorecido un mayor desplazamiento de fósforo al agua. Si la referencia es la masa de fósforo extraíble en agua de la razón 1:200, entonces, por cada 100 g de fósforo total contenido en la muestra ósea incinerada, solo 0,093 g de éste es fósforo extraíble en agua.

Palabras claves: bovino, fósforo, fósforo soluble en agua, fósforo total, hueso.



Recibido: 4 de abril, 2025
Revisado: 12 de mayo, 2025
Aceptado: 19 de junio 2025

Citación sugerida: Cestari-Abreu S. y Flores S. (2025). Contenido de fósforo en tibia ósea bovina, y potencial del hueso bovino para incrementar el perfil nutricional de suelos agrícolas. En *Aplicaciones prácticas en el manejo del suelo y fertilización de cultivos* (pp. 113–121). Colección seriada: *Glebe*, 1(1). <https://doi.org/10.63804/gb.1.1.5>

Abstract

The objective of this work was to determine the total phosphorus and the water-extractable phosphorus content of an incinerated bovine tibia bone sample without marrow. Regarding the extraction of total phosphorus, three acid digestions were compared, that is nitric acid and perchloric acid, hydrochloric acid and hydrogen peroxide, and hydrochloric acid. The bone sample was incinerated at 800 °C for 8 hours before the digestions in question. With respect to water-extractable phosphorus, two bone:water ratios were contrasted, that is 1:100 and 1:200. The total phosphorus per dry mass of the incinerated bone was $44,177 \pm 0,810$ % P_2O_5 (w/w DW), and the three acid digestions gave pragmatically similar values. The water-extractable phosphorus content per dry mass of the incinerated bone material was $0,013 \pm 0,001$ and $0,040 \pm 0,001$ % P_2O_5 (w/w DW) for the ratios 1:100 and 1:200, respectively. The higher fraction of phosphorus in the 1:200 ratio, despite being the most diluted alternative, could be the result of a lower impact of this on the pH of the extracting mix, which could have favored a greater movement of phosphorus to the water. If the benchmark is the content of water-extractable phosphorus in the ratio 1:200, then for every 100 g of total phosphorus contained in the incinerated bone sample, only 0.093 g of it is water-extractable phosphorus.

Keywords: bone, bovine, phosphorus, total phosphorus, water-extractable phosphorus.

Introducción

El fósforo es uno de los nutrientes elementales para el sustento vegetal [1]. Las demandas de fósforo agrícola provienen de la explotación de los yacimientos de roca fosfórica; esto entraña una actividad minera con perjuicio ambiental [2] [3], así que, con el objetivo de promover una economía amigable con el ambiente, resulta adecuado encontrar alternativas a la roca fosfórica entre los residuos orgánicos de la cadena antrópica de consumo, y los desperdicios óseos representan una opción en este contexto [4]. El hueso animal deriva de una matriz de colágeno con cristales minerales en su interior, entre los que sobresalen aquellos de hidroxapatita, que son ricos en fósforo [5]. El fósforo en la hidroxapatita es recalcitrante, es decir, fuertemente enlazado al mineral; a más recalcitrante sea el fósforo, más difícil será su extracción para su posterior medición o uso [4]. Para liberar el fósforo total (FT) de esta matriz, la muestra puede exponerse a ácidos en presencia o ausencia de agentes oxidantes; diferentes ácidos y agentes oxidantes pueden evaluarse para identificar aquella combinación que mejor extracción ofrece [6] [7]. Ahora, no basta medir el FT de una enmienda agrícola, sino que debe determinarse también su contenido de fósforo biodisponible (FB), es decir, la fracción del FT que es asimilable por la vegetación

circundante [8]. Para medir FB, primero, la muestra debe someterse a una extracción con algún agente inerte que separe el fósforo lábil o pobremente adsorbido de la matriz de la muestra [8] [9]; autores han sugerido distintos agentes de extracción, pero el agua es el disolvente por excelencia en la naturaleza y aquel usado en las actividades agrícolas [10].

El propósito del trabajo es medir el contenido de FT y de FB de una muestra de tibia bovina incinerada sin médula para proveer el % FB (m/m FT) de ésta; esto permite ratificar si el resto orgánico en cuestión es realmente una fuente recalcitrante de fósforo en comparación a otros abonos rutinariamente usados en la agricultura orgánica. Al mismo tiempo, el estudio busca comparar la eficacia de tres tratamientos ácidos para la digestión de la muestra ósea, así como de dos radios hueso : agua para la extracción de FB; en concreto, digestión con ácido perclórico y predigestión con ácido nítrico, con ácido clorhídrico, y con ácido clorhídrico junto a peróxido de hidrógeno, y los radios 1:100 y 1:200, respectivamente.

Metodología

Digestión de material óseo

Todos los tratamientos partieron de una masa de 200 mg de muestra ósea bovina incinerada sin médula cernida ($\leq 100 \mu\text{m}$) (OIM); ésta fue obtenida tras una incineración a 800 °C por 8 h del hueso fresco y limpio de restos de médula. Para la digestión con ácido perclórico, un volumen de 3 ml de HNO_3 65 – 70 % (m/m) fue añadido a la muestra para luego calentar a 150 °C por 20 min; procedió la adición de 4 ml de HClO_4 60 % (m/m) y un calentamiento a 90 °C por 40 min. La digestión con ácido clorhídrico y peróxido de hidrógeno involucró el agregado de 4, 3 y 3 mL de HCl 6 M, H_2O_2 30 % (m/m) y HCl 6 M, respectivamente, en el antedicho orden; continuó un calentamiento a 150 °C por 20 min. Finalmente, el tratamiento con ácido clorhídrico entrañó el uso de 7 ml HCl 6 M y una digestión a 150 °C por 20 min. Para todos los casos, la muestra ya digerida fue aforada a 50 ml con agua destilada.

Extracción de fósforo soluble en agua

El fósforo extraíble en agua o FB de la muestra ósea en cuestión fue obtenido con base en el método descrito por Kleinman et al. [10] con algunas modificaciones. Concretamente, una masa fresca de OIM equivalente a 5,0 g de OIM seca fue introducida en un matraz de capacidad 500 mL, y agua suficiente fue agregado hasta completar los 500 mL (1:100, m/v); prosiguió una agitación por 1 h con agitador magnético, una centrifugación a 4000 rpm por 10 min y, por último, un filtrado por papel Whatman® 42. Lo anterior fue

replicado con una masa fresca de OIM equivalente a 2,5 g de MOI seca (1 : 200, m/v).

Determinación de fósforo

El FT fue determinado por el método amarillo de metavanadato según Kuo [9]; la curva de calibración entrañó nueve puntos, es decir, 0, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 y 450 $\mu\text{g P/L}$. El FB fue medido por el método ácido ascórbico con base en Baird et al. [11]; la curva de calibración involucró una curva de calibración con seis puntos, es decir, 0, 5, 10, 15, 20 y 25 $\mu\text{g P/L}$.

Análisis estadístico

Los diferentes tratamientos fueron comparados con pruebas de suma de rango de Wilcoxon; los análisis fueron emprendidos en R v4.3.0 [12].

Resultados y discusión

El contenido de FT de la muestra ósea incinerada para cada una de las digestiones ácidas evaluadas es reflejado en la Tabla 1. Algunos autores señalan al ácido perclórico como uno de los mejores agentes de digestión por su poder acidificante y oxidante [7] [9]; en este sentido, la estimación inicial fue que la digestión del sustrato óseo con el tratamiento HNO_3 / HClO_4 daría los valores más altos de FT, pero fue el de HCl el que condujo a los mejores resultados. Ahora, a pesar de que los ensayos HNO_3 / HClO_4 y HCl fueron estadísticamente distintos, desde una óptica práctica, los tres tratamientos evaluados condujeron a resultados similares; en este sentido, los laboratorios podrían hacer uso de aquella opción que mejor se ajuste a sus exigencias. Por último, en el proceso de incineración fue obtenida una masa promedio de 70 g de hueso incinerado por cada 100 g de hueso seco introducido, por lo tanto, la media para todos los registros de FT ($n = 60$) fue de $44,177 \pm 0,810$ % P_2O_5 (m/m DW) por masa incinerada o $30,924 \pm 0,567$ % P_2O_5 por masa deshidratada; el contenido promedio de fósforo en hueso seco no incinerado es de $26,121 \pm 11,915$ % P_2O_5 según Möller et al. [4], por consiguiente, los resultados obtenidos entran dentro de lo registrado en la literatura.

Tabla 1: Contenido de fósforo total en tibia bovina incinerada.

Tratamiento	N	% P (m/m DW)*	% P_2O_5 (m/m DW)*
$\text{HClO}_4/\text{HNO}_3$	24	$19,172 \pm 0,400^a$	$43,930 \pm 0,916^a$
$\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}_2$	12	$19,202 \pm 0,183^{ab}$	$43,999 \pm 0,420^{ab}$
HCl	24	$19,427 \pm 0,327^b$	$44,514 \pm 0,748^b$

* Masa de fósforo por cada 100 g de hueso incinerado, molido y seco (DW). Letras diferentes en una misma

columna, tratamientos distintos según la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

La Tabla 2 resume el contenido de FB de la muestra ósea incinerada en cuestión. La relación 1:200 (m/v) concluyó en un contenido de FB estadísticamente mayor que aquel registrado para 1:100. La hidroxiapatita contiene iones hidróxido [13], y el fósforo reduce su solubilidad en entornos alcalinos cuando está acomplejado con minerales de calcio [8]; en este sentido, el mayor contenido de muestra ósea en el tratamiento 1:100 pudo haber desempeñado un efecto alcalinizante en la mezcla acuosa, y, en consecuencia, haber reducido el desplazamiento de fósforo desde la muestra al agua. La resolución de lo anterior no fue objetivo específico del presente trabajo, no obstante, trabajo futuro será realizado para dilucidar si esta observación es resultado de un cambio de pH de la mixtura de extracción.

Tabla 2. Fósforo extraíble en agua en tibia bovina incinerada.

Extracción	N	% P (m/m DW)*	% P ₂ O ₅ (m/m DW)*
1:100	18	0,006 ± 0,001 ^a	0,013 ± 0,001 ^a
1:200	18	0,018 ± 0,001 ^b	0,040 ± 0,001 ^b

* Masa de fósforo por cada 100 g de hueso incinerado, molido y seco (DW). Letras diferentes en una misma columna, tratamientos distintos según la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

Cuando el contenido FB de la relación 1:200 es considerado, el % FB es igual a 0,091 % (m/m FT), es decir, por cada 100 g de FT del hueso incinerado evaluado, tan solo 0,091 g son FB. Este último valor es bajo en comparación con el de otras enmiendas orgánicas; por ejemplo, un compost de estiércol de vaca y otro de gallinaza dieron % FB de 14,71 % y 23,37 %, respectivamente [14], en cambio, residuos de cama para gallinas de engorde dieron valores de 11 – 22 % [15]. Expuesto lo anterior, la evidencia apunta a que la muestra ósea incinerada evaluada, en efecto, es una fuente recalcitrante de fósforo; éste es rico en FT, pero la vegetación circundante tendría acceso difícil a este nutriente. Futura investigación será emprendida en miras de evaluar la posibilidad de aumentar la fracción FB de hueso incinerado; el empleo de bacterias solubilizadoras de fosfato, que están descritas como microorganismos capaces de solubilizar formas recalcitrantes de fósforo [16], podría resultar una vía viable para este objetivo.

Conclusiones

La muestra de tibia bovina incinerada (sin médula) presentó una alta concentración total de fósforo, y los métodos de digestión ácida evaluados muestran una equivalencia

práctica en cuanto al contenido determinado de fósforo total. En contraste, el fósforo extraíble en agua fue muy bajo, incluso en relaciones de dilución relativamente altas. En consecuencia, esta muestra puede clasificarse como una fuente de fósforo recalcitrante, de difícil solubilización o disponibilización bajo condiciones acuosas estándares evaluadas.

Agradecimientos

Los autores extienden agradecimientos a los Doctores Jorge Paolini, Danilo López, Marcia Toro y Jesmary Rosas por sus orientaciones.

Declaración de disponibilidad de datos

El autor de correspondencia puede suministrar los registros experimentales obtenidos a toda persona interesada; escribir un correo electrónico con razones justificadas.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Bibliografía

- [1] Food and Agriculture Organization (FAO), “Enseñanzas de la revolución verde: hacia una nueva revolución verde, Roma, Italia, 1996.
- [2] D. Childers, J. Corman, M. Edwards, and J. Elser, “Phosphorus and food: solutions from closing the human phosphorus cycle”, *BioScience*, vol. 61, no. 2, 2011. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.2.6>.
- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), “Enseñanzas de la revolución verde: hacia una nueva revolución verde,” Roma, Italia, 1996. [Online]. Available: <https://openknowledge.fao.org/items/0e74d437-435d-490e-b579-c7c5c80c012b>.
- [2] D. L. Childers, J. Corman, M. Edwards, and J. J. Elser, “Sustainability Challenges of Phosphorus and Food: Solutions from Closing the Human Phosphorus Cycle,” *Bioscience*, vol. 61, no. 2, pp. 117–124, Feb. 2011, doi: <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.2.6>.
- [3] D. Cordell, J.-O. Drangert, and S. White, “The story of phosphorus: Global food security and food for thought,” *Glob. Environ. Chang.*, vol. 19, no. 2, pp. 292–305, May 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>.

- [4] K. Möller et al., “Improved Phosphorus Recycling in Organic Farming: Navigating Between Constraints,” 2018, pp. 159–237. doi: 10.1016/bs.agron.2017.10.004.
- [5] A. Rauf, “Animal bone: A brief introduction,” *Int. J. Sci. Environ. Technol.*, vol. 3, no. 4, pp. 1458–1464, 2014.
- [6] O. Popovic, M. Hjorth, and L. Stoumann Jensen, “Phosphorus, copper and zinc in solid and liquid fractions from full-scale and laboratory-separated pig slurry,” *Environ. Technol.*, vol. 33, no. 18, pp. 2119–2131, Sep. 2012, doi: <https://doi.org/10.1080/09593330.2012.660649>.
- [7] M. Bender and C. W. Wood, “Total phosphorus in soil,” in *Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters*, 1st ed., G. M. Pierzynski, Ed., Southern Cooperative Series Bulletin No. 396, North Carolina State University, 2000, pp. 45–49.
- [8] P. A. Sanchez, *Properties and Management of Soils in the Tropics*, 2nd ed. Cambridge ; New York: Cambridge University Press, 2019.
- [9] S. Kuo, “Phosphorus,” in *Methods of Soil Analysis: Part 3 – Chemical Methods*, D. L. Sparks, Ed., in *SSSA Book Series No. 5.*, Madison, WI: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, 1996, pp. 869–919.
- [10] P. Kleinman et al., “Selection of a Water-Extractable Phosphorus Test for Manures and Biosolids as an Indicator of Runoff Loss Potential,” *J. Environ. Qual.*, vol. 36, no. 5, pp. 1357–1367, Sep. 2007, doi: <https://doi.org/10.2134/jeq2006.0450>.
- [11] R. B. Baird, A. D. Eaton, and E. W. Rice, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23rd ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017.
- [12] R Core Team, “R: A Language and Environment for Statistical Computing,” 2023, Vienna, Austria. [Online]. Available: <https://www.r-project.org/>
- [13] G. Malcangi et al., “Analysis of Dental Enamel Remineralization: A Systematic Review of Technique Comparisons,” *Bioengineering*, vol. 10, no. 4, p. 472, Apr. 2023, doi: <https://doi.org/10.3390/bioengineering10040472>.
- [14] A. Sharpley and B. Moyer, “Phosphorus Forms in Manure and Compost and Their Release during Simulated Rainfall,” *J. Environ. Qual.*, vol. 29, no. 5, pp. 1462–1469, Sep. 2000, doi: <https://doi.org/10.2134/jeq2000.00472425002900050012x>.

- [15] A. B. Leytem, P. W. Plumstead, R. O. Maguire, P. Kwanyuen, and J. Brake, “What Aspect of Dietary Modification in Broilers Controls Litter Water-Soluble Phosphorus,” *J. Environ. Qual.*, vol. 36, no. 2, pp. 453–463, Mar. 2007, doi: <https://doi.org/10.2134/jeq2006.0334>.
- [16] A. Bargaz, W. Elhaisoufi, S. Khouichi, B. Benmrid, K. A. Borden, and Z. Rchiad, “Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus,” *Microbiol. Res.*, vol. 252, p. 126842, Nov. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842>.

Sebastián Cestari-Abreu, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Centro de Biotecnología Agrícola, Laboratorio de Biofertilizantes y Biocontroladores. Panamericana km 11, Altos de Pipe, Los Salias, Miranda. Venezuela

Sebastián Cestari pertenece al Laboratorio de Biofertilizantes y Biocontroladores del Centro de Biotecnología Agrícola, y colabora con el Laboratorio de Ecología de Suelos del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Es un investigador enfocado en la sostenibilidad agrícola, con amplia experiencia en la utilización de residuos orgánicos para mejorar la calidad del suelo. Cestari es Licenciado en Ciencias Biológicas y ha dedicado su carrera al desarrollo de tecnologías en biofertilización y manejo sostenible de recursos naturales. Ha liderado proyectos de investigación que combinan técnicas avanzadas de análisis químico con enfoques microbiológicos, buscando maximizar la eficiencia en la liberación de nutrientes y su impacto en el rendimiento de cultivos. Además de su labor científica, Cestari participa en la divulgación del conocimiento, colaborando con agricultores y empresas para implementar prácticas agrícolas sostenibles.

Sebastián Cestari is affiliated with the Biofertilizers and Biocontrol Laboratory at the Center for Agricultural Biotechnology and collaborates with the Soil Ecology Laboratory of the Venezuelan Institute for Scientific Research (IVIC). He is a researcher focused on agricultural sustainability, with extensive experience in using organic residues to improve soil quality. Cestari holds a Bachelor's degree in Biological Sciences and has dedicated his career to developing technologies in biofertilization and sustainable natural resource management. He has led research projects that combine advanced chemical analysis techniques with microbiological approaches, aiming to maximize nutrient release efficiency and its impact on crop yield. In addition to his scientific work, Cestari engages in knowledge dissemination, collaborating with farmers and companies to implement sustainable agricultural practices.

Saúl Flores, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Centro de Ecología, Laboratorio de Suelos, Ambiente y Agricultura. Panamericana km 11, Altos de Pipe, Los Salias, Miranda. Venezuela

Saúl Ramón Flores Acosta es biólogo y doctor en Ciencias Ambientales, actualmente desempeñándose como Profesional Asociado a la Investigación J-3 en el Centro de Ecología del

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC. Con más de 35 años de trayectoria, ha liderado proyectos en ecología de suelos, agricultura sostenible y restauración ecológica. Destaca su iniciativa para recuperar suelos abandonados dentro del IVIC, donde implementó cultivos de café orgánico que fueron reconocidos entre las 60 mejores variedades de Venezuela. Su trabajo ha sido determinante en la promoción de la identidad y excelencia del café del estado Miranda, recibiendo reconocimiento por su contribución al desarrollo cafetalero regional..

Saúl Ramón Flores Acosta is a biologist and holds a Ph.D. in Environmental Sciences. He currently serves as an Associate Research Professional J-3 at the Ecology Center of the Venezuelan Institute for Scientific Research (IVIC). With over 35 years of experience, he has led projects in soil ecology, sustainable agriculture, and ecological restoration. Notably, he initiated the recovery of abandoned soils within IVIC, where he implemented organic coffee cultivation that was recognized among the 60 best varieties in Venezuela. His work has been instrumental in promoting the identity and excellence of coffee from Miranda state, earning recognition for his contribution to regional coffee development.