

# Apéndice Analítico

---

## MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SUELO Descripciones y reflexiones

Fernando Millán  
Jean-Marie Hétier

### INTRODUCCIÓN GENERAL

El presente “Apéndice Analítico”<sup>27</sup> se ha ideado como apoyo científico y técnico para profesionales como científicos, ingenieros, técnicos, profesores, estudiantes que, de una u otra forma, se interesan en el diagnóstico de la fertilidad del suelo y en la eficiencia de la fertilización. En el mismo, podrán encontrar unas discusiones críticas de los métodos de análisis de suelos más utilizados en estas materias, para tener mejores elementos de juicio que permitan una interpretación y aplicación racional y no dogmática de los resultados.

Al desarrollar sus capacidades críticas, tanto el analista como el responsable de la interpretación de los resultados, tienen que conocer los alcances y los límites de la validez de estos análisis, para orientar mejor a los productores en la racionalización de la producción agrícola. En la consecución de este objetivo general se deben cumplir algunos objetivos específicos tales como:

- Seleccionar una serie de métodos de análisis accesibles a laboratorios modestos, dedicados principalmente al diagnóstico de la fertilidad de suelos cultivados y al seguimiento de los efectos del trabajo del suelo y de la fertilización.
- Poner a disposición del lector una bibliografía abundante que permita a los investigadores tener acceso a métodos especializados, que se hacen indispensables para su campo específico de investigación.

En la primera parte de este “Apéndice Analítico”, se presentan los métodos físicos de fraccionamiento que incluye la granulometría y el fraccionamiento físico de la materia orgánica. El lector encontrará una discusión detallada de la ley de Stokes de la sedimentación, con sus limitantes y condiciones para su aplicación, así como los posibles errores que se pueden presentar. El fraccionamiento cuantitativo de los constituyentes orgánicos puede mejorar sensiblemente la calidad de los resultados analíticos y facilitar la interpretación de los procesos de mineralización, organización y humificación del carbono y del nitrógeno.

---

<sup>27</sup> El presente Apéndice Analítico procede en gran parte de la obra de M. Pansu y J. Gautheyrou\*, quienes dieron su permiso para seleccionar y traducir elementos que pudieran ser de utilidad para completar esta obra de referencia sobre los suelos tropicales cultivados. Igualmente, fueron tomados algunos procedimientos del cuaderno de análisis rutinario de suelo usado por los laboratorios del INIA, elaborado por Julia Gilabert de Brito y Luis Nieves\*\*, los cuales vienen a complementar la información presentada en la presente obra. Expresamos nuestro agradecimiento por su apoyo.

\* Marc Pansu et Jacques Gautheyrou, 2003 - *L'analyse du sol – minéralogique, organique et minérale*. Springer, París, Berlín, Heidelberg, New York, 995 p.

\*\*Julia Gilabert de Brito y Luis Nieves 1990. Manual de Métodos Analíticos para caracterizar perfiles de suelos. CENIAP, Maracay, 101 p.

En la segunda parte del Apéndice Analítico se presentan los métodos químicos, comenzando con la determinación de  $pH$  del suelo y la determinación de los requerimientos de cal. Seguidamente se describe el análisis elemental de C, H, N, tanto por vía húmeda como por vía seca o combustión. Este tipo de análisis es importante en la caracterización y cuantificación de la materia orgánica, elementos esenciales en el diagnóstico de la fertilidad potencial del suelo.

Otro de los parámetros importantes en la caracterización de los suelos, es el intercambio iónico, por lo tanto, se presentan los métodos para la determinación de las capacidades de intercambio tanto catiónico como aniónico, y la cuantificación de los nutrientes en su estado llamado intercambiable al  $pH$  del suelo o a un  $pH$  estándar como el el  $pH$  7 del buffer de acetato de amonio normal.

Como es sabido, en el diagnóstico clásico de la fertilidad de suelos, la determinación de nutrientes se realiza por procedimientos de extracción utilizando diversas soluciones de reactivos más o menos agresivos, así como extractantes de diversa índole para cada nutriente o determinación. Este modelo de diagnóstico basado en procedimientos de extracción específicos afecta la productividad de los laboratorios y contribuye a aumentar los precios de los análisis. Además, estos procedimientos de extracción específicos de cada elemento o grupo de elemento presenta inconvenientes no solamente económicos sino también ecológicos, al aumentar indebidamente las cantidades de reactivos agresivos o tóxicos.

En la tercera y última parte del Apéndice Analítico, se presenta una revisión bibliográfica sobre las determinaciones que se pueden hacer a partir de la llamada "solución de suelo", compartimiento del sistema suelo-planta que debería probablemente valorizarse más a futuro en el campo del diagnóstico de la fertilidad y de los efectos de la fertilización. Ello permitiría desarrollar procedimientos de extracción que usen menor cantidad de reactivos y que estos sean más amigables con el ambiente. Además, las mejoras en sensibilidad y exactitud de los métodos modernos ofrecen ahora límites de detección muy bajas para elementos solubles en el agua, con muestras de tamaño muy reducido, permitiendo en algunos casos detecciones secuenciales o simultáneas de bajas concentraciones de nutrientes.

Actualizar los métodos tradicionales mejoraría la eficiencia de los análisis de suelo, disminuyendo el impacto ambiental de los reactivos evacuados en las aguas servidas de los laboratorios. Esto es especialmente importante para estudios de modelización de los flujos de nutrientes en el suelo, donde el seguimiento de la solución de suelo a lo largo de experimentos de larga duración requiere numerosos análisis químicos.

Se acompaña la presentación de cada método de las consideraciones necesarias para un análisis crítico de los resultados. En efecto, es primordial conservar un punto de vista científico a lo largo de todo el proceso de diagnóstico de la fertilidad y los efectos de la fertilización. El proceso científico comienza en el momento de la toma de las muestras in situ y se termina por la lectura y la interpretación de los resultados. Los resultados deben luego interpretarse en función de un buen conocimiento del proceso analítico utilizado, porque sólo son un reflejo más o menos deformado de una realidad casi siempre compleja y cambiante. El científico reconstruye esta "realidad" según los modelos más o menos conscientes procedente de su formación científica inicial y de su experiencia profesional.

Es necesario recordar estas exigencias, ya que los primeros químicos que pusieron a punto la mayoría de estos métodos de análisis de suelos, estaban, sobre todo, preocupados de obtener resultados fiables y reproducibles en el laboratorio, en una época en la que los límites de detección de los métodos analíticos eran mucho más elevados que ahora. Estos métodos clásicos reflejan en gran parte el nivel de conocimientos de un pasado lejano, donde se usaban métodos de análisis químicos poco sensibles.

Durante la segunda mitad del siglo pasado, se produjo además un olvido progresivo de las condiciones de trabajo de estos precursores. Poco a poco se produjo también una "conceptualización" de expresiones tales como "elementos asimilables" o "disponibles" que en realidad no corresponden a ninguna realidad físico-química bien definida.

La realidad del suelo como **interfase** entre litósfera y biósfera por una parte (a una escala de tiempo del orden de siglos a milenios), y como sistema **suelo - solución - planta** (a escala diaria o mensual) por otra parte, es extremadamente compleja. Como aún la compleja realidad del sistema suelo-solución-planta queda en gran parte inaccesible a nuestros medios de análisis y observación, es indispensable guardar conciencia de la diferencia muy grande entre esta realidad y las representaciones necesariamente simplificadoras, propuestas por los químicos del suelo o los autores de modelos compartimentales que tienen que "*nombrar*" sus compartimentos. Esta es la razón fundamental por la que la presentación de los métodos seleccionados se debe acompañar siempre de comentarios, que permitirán al analista y al usuario evaluar el alcance y los límites de la interpretación de los resultados<sup>28</sup>.

## MUESTREO DE SUELO

Antes de empezar la descripción de los métodos físicos y químicos de análisis del suelo, es indispensable recordar las precauciones indispensables para asegurar la validez y la representatividad de los resultados. El resultado de un análisis de suelo podrá revelar las características reales del mismo, en la medida que los procesos de muestreo y preparación de la muestra estén exentos de errores.

### Protocolos y precauciones

La heterogeneidad de los horizontes de superficie es muy elevada, por lo tanto, el muestreo es difícil y debe efectuarse con protocolos bien definidos. En efecto, este muestreo condiciona la validez de los resultados posteriores.

Es preciso diferenciar dos tipos de muestreo. El **muestreo de definición** del tipo de suelo, empieza por la realización de una calicata de profundidad variable pero alcanzando el horizonte C. Después de la observación del perfil se procede al muestreo de los horizontes definidos por la observación desde abajo hacia arriba. El **muestreo de evaluación de fertilidad** puede limitarse a uno o dos horizontes de superficie.

En ambos casos, es indispensable recordar que todo muestreo debe ser preparado por un estudio preliminar de representatividad. Tal estudio preliminar puede llegar a una verdadera cartografía de la parcela o limitarse a una serie de sondeo por taladro. Una vez asegurada la representatividad del sitio elegido para el muestreo, se procede a constituir una muestra representativa a partir de un número variable de 5, 10 a 30 sub-muestras en relación a la configuración de la parcela y de su grado de heterogeneidad. De estas sub-muestras correctamente homogeneizadas, se saca por cuarteo una muestra final de aproximadamente 1 kg en un saco de plástico bien identificado para el laboratorio.

El secado inicial se efectúa al aire en un local bien ventilado después de un lapso de tiempo inferior a tres días después del muestreo de campo. En el laboratorio, se efectúa un tamizado previo a

---

<sup>28</sup> Bibliografía: Al final de cada apartado temático se encontrará primero la bibliografía citada en el texto. Además, se agregó una bibliografía temática general para facilitar la información complementaria del lector interesado en un tema específico. En algunos casos, existe también una cronobibliografía que permite evocar la evolución de los conocimientos del tema de referencia.

2 mm para separar los desechos vegetales gruesos. Es necesario evitar la molienda de los desechos orgánicos, conservando su tamaño original, sino se podría sobre-estimar significativamente la carga orgánica de la muestra. Esta etapa también condiciona la representatividad de los resultados del mismo modo que el peso de la muestra sometida al proceso analítico (Pansu *et al.*, 1998).

El secado aumenta la fijación de  $\text{NH}_4^+$ , en particular cuando las arcillas de tipo 2:1 (montmorilonita, vermiculitas) son abundantes. En el almacenamiento, la acción de los microorganismos puede perdurar en función del nivel de respiración del suelo, del contenido en lignina, de la humedad residual de la muestra secada aire.

Al triturar la totalidad de una sub-muestra del material de tamaño  $< 2$  mm (hasta pasarla por el tamiz de 0,125 mm), se modifica la humedad de equilibrio y las superficies reactivas. La humedad que sirve para corregir los resultados se mide sobre esta muestra molida, al mismo tiempo que la toma analítica.

El secado a  $105^\circ\text{C}$ , si su duración no supera 3 ó 4 horas, no causa, en la mayoría de los casos, pérdidas significativas de C y N gaseosos, se eleva un poco más la fijación de N en las redes arcillosas. En el caso de análisis instrumental para CHN (OS), se pueden secar las muestras a  $105^\circ\text{C}$ , lo que por una parte, puede evitar la corrección de los resultados y por otra parte limita la acumulación de agua en las trampas.

La trituración iso-granulométrica es necesaria para mejorar la representatividad de los resultados, las tomas analíticas siendo aproximadamente de 50 a 100 mg en el caso de los análisis de CHN (OS) por vía seca. En el caso de los análisis por vía húmeda, ello garantiza un ataque más regular y más completo aumentando mucho las interfaces sólido-líquido.

### **Expresión de los resultados: influencia de la densidad aparente y de la pedregosidad**

Cuando los resultados analíticos se utilizan con fines agronómicos, conviene tomar en cuenta la densidad del suelo, en particular, para los suelos turbosos, los andisoles y los histosoles cuya densidad aparente puede reducirse alrededor de 0,4. En este caso, la expresión ponderal no corresponde al contenido real disponible para las plantas por unidad de volumen, y una corrección volumétrica es necesaria.

Para los suelos ricos en gravas, piedras y rocas, o desechos vegetales no divididos, presentando un rechazo de tamiz  $< 2$  mm es preferible también corregir los resultados de análisis brutos, para tener una visión global más cercano de la calidad del suelo por unidad de volumen o por hectárea.

La fracción gruesa, *FG*, (grava y fragmentos de roca que no pasa a través del tamiz), es pesada ( $P_{FG}$ ), y su contenido reportado como composición porcentual de la muestra total ( $P_{muestra}$ ). Las características especiales de las concreciones gruesas que corresponden a la fracción gruesa son escogidas lo más cuantitativamente como sea posible, y su contenido determinado separadamente.

$$\% FG(> 2mm) = \frac{P_{FG}}{P_{muestra}} \times 100$$

La Fracción Fina, *FF*, ( $< 2$  mm), tierra fina, secada al aire) es homogeneizada y constituye la muestra de suelo sobre la cual se aplicaran los procedimientos usuales del laboratorio para caracterizar los perfiles.

$$\% FF(< 2mm) = \frac{P_{FF}}{P_{muestra}} \times 100$$

## MÉTODOS FÍSICOS

Al igual que las propiedades químicas del suelo, las propiedades físicas del mismo pueden ser favorables o limitantes para el crecimiento de plantas. La humedad, densidad aparente así como la distribución del tamaño de las partículas y su organización, determinan las relaciones suelo-planta. El análisis de las propiedades físicas del suelo permite entonces, establecer ciertos parámetros indicativos del estado y naturaleza del suelo estudiado.

### Método Gravimétrico para determinar la Humedad a Saturación

#### Principio

El análisis se basa en la pérdida de peso de una muestra de suelo saturada, cuando ésta es secada en estufa a 105 °C hasta peso constante.

#### Procedimiento

##### *Materiales y equipos*

- Balanza 0,1 mg (con espátula)
- Desecador y estufa
- Recipientes plásticos y de aluminio

#### Preparación del extracto de saturación

Se colocan 500 g de suelo (fracción < 2 mm, secada al aire) en un beaker plástico. Se agrega suficiente agua para saturar la muestra de suelo y se agita suavemente con una espátula agregando agua o suelo, hasta alcanzar la situación de saturación hídrica. Se cubre el beaker o recipiente plástico y se deja en reposo toda la noche. Al día siguiente, se verifica el estado de la pasta de acuerdo a los criterios abajo señalados y, si es necesario, se reajusta la condición de pasta saturada con algo de agua o de suelo. Se transfiere la pasta a un embudo Buchner de fondo poroso (usar en el fondo un papel filtro duro, de lenta filtración), se aplica succión y se recolecta el filtrado (solución de suelo). Si la solución filtrada continúa turbia, se repite el proceso de filtración.

#### Criterios para la condición de saturación

La pasta así preparada debe reflejar la luz y cuando el recipiente es golpeado en el fondo contra el mesón, no debe aparecer agua en la superficie y debe reflejar la luz. La pasta se desliza y se desprende libre y limpiamente de la espátula, excepto en el caso de suelos muy arcillosos.

### Determinación de la Humedad de Saturación

Se transfiere una porción de la pasta de saturación a un recipiente de aluminio previamente pesado, y se pesa con precisión de 0,001 g (A: peso húmedo,  $P_{húmedo}$ ). Secar en la estufa toda la noche a 150 °C, con el recipiente destapado y finalizado el calentamiento se sacar el recipiente de la estufa, se tapa y es enfriado en el desecador, una vez frío, se pesa (B: Peso seco,  $P_{seco}$ ).

**Cálculos:** El % de humedad a saturación, se expresa como porcentaje con dos cifras decimales.

$$\% \text{ humedad} = \frac{P_{húmedo} - P_{seco}}{P_{seco}} \times 100 = \frac{P_{agua}}{P_{seco}} \times 100$$

### Observaciones al método

Desde el punto de vista de las relaciones suelo-planta, puede argumentarse que para un cierto número de parámetros del suelo, es relevante expresar los valores en el suelo, en base a volumen (peso/volumen), más que en la forma usual de presentarlos en base a peso (peso/peso). El peso del suelo, puede fácilmente ser convertido a volumen usando la densidad aparente.

En el Cuadro AA1 se muestra la relación entre el porcentaje de saturación (PS) y el porcentaje de humedad al punto de marchitez (a 15 atmósferas,  $P15_{Atm}$ ), mostrando la influencia de los tipos o grupos texturales del suelo.

Cuadro AA1. Relación entre el porcentaje de saturación (PS) y el punto de marchitez (a 15 atmósferas,  $P15_{Atm}$ ) mostrando la influencia de la textura del suelo.

Grupo de suelo	Muestras de suelo	PUNTO DE MARCHITEZ (P15A)			PUNTO DE SATURACIÓN (PS)			PUNTO DE SATURACIÓN/PUNTO DE MARCHITEZ (PS/P15A)			
		Mínimo	Máximo	Prome-dio	Mínimo	Máximo	Promedio	Mínimo	Máximo	Promedio	Desviación Estándar
Grueso	10	3,4	6,5	5,0	16,0	43,1	31,8	4,68	8,45	6,37	1,15
Medio	23	6,6	14,1	10,8	26,4	60,0	42,5	3,15	5,15	3,95	0,48
Fino	11	16,1	21,0	18,5	41,8	78,5	59,5	2,03	4,26	3,20	0,60
Orgánico	18	27,6	51,3	37,9	81,0	255	142	2,53	4,97	3,66	0,75

Se utilizó el porcentaje de humedad al punto de marchitez (15 atmósferas) para clasificar las muestras de suelo en tres grupos, según la textura: grueso, medio y fino, las cuales se muestran en el Cuadro AA1. Los valores del porcentaje de humedad al punto de marchitez se escogieron arbitrariamente para poder designar estos grupos de textura como sigue: Gruesa 2,0-6,5; media 6,6-15,0, y fina mayor de 15. Las cifras de la columna ( $P15_{Atm}$ ), son los valores reales del ( $P15_{Atm}$ ) para las muestras de los diversos grupos de texturas.

La relación  $PS/P15_{Atm}$  del grupo de textura fina que es el más numeroso, es casi de 4, con poca variabilidad, en tanto que las relaciones para los grupos de textura fina y los altos en materia orgánica son un poco menores.

Cuando el porcentaje de saturación en las arenas se determina por el procedimiento típico, los valores obtenidos con relación a la variación de humedad de campo, son mayores que para otros

suelos. Esto se debe a que en las arenas los poros grandes que se llenan de agua en el caso de la pasta de saturación, no retienen la misma cantidad de agua bajo condiciones de campo.

## **Determinación de la densidad aparente**

### Concepto

La densidad aparente del suelo es la relación masa/volumen, o del volumen macroscópico de las partículas del suelo no perturbado (Terrón) más el espacio poroso en una muestra. La densidad aparente, es usada principalmente para transformar el contenido de agua del suelo expresado en % de peso a contenido por volumen.

$$d_{aparente} \left( \frac{g}{mL} \right) = \frac{m(g)_{Terrón}}{V(mL)_{Terrón}}$$

La densidad aparente del suelo no es una cantidad invariable para un suelo dado. Por el contrario, varía con la condición estructural del mismo y está particularmente relacionada con la compactación. Por esa razón, la densidad aparente es a menudo utilizada como una medida de la estructura del suelo.

Con estos datos se pueden hacer inferencias tales como: probabilidad de dificultad a la penetración de raíces, posibilidad de encontrar problemas de drenaje, presencia de capas endurecidas, contenido de Arcilla, (valores mayores) y contenido de MO (valores menores).

## **Método Amsler**

### Principio

El método de Amsler o del Terrón, consiste esencialmente en el secado y pesado de un volumen de suelo no perturbado conocido (Terrón). Esta determinación se basa en la gran tensión superficial del mercurio, utilizando un aparato llamado "Volumenómetro de Mercurio Amsler", que aunque no ha sido construido con esta finalidad se adapta perfectamente a esta determinación. Con este aparato, se determina el volumen del terrón.

Con este método se logran buenos resultados y, aunque es más rápido, tiene ciertas desventajas. La primera es que sobre estima los valores de la densidad aparente, ya que se introducen muestras pequeñas y secadas en la estufa, lo que produce una contracción del volumen del terrón. Por otro lado, el mercurio líquido puede penetrar en orificios dentro del terrón y causar lecturas erróneas.

Debido a que se trabaja con muestras (terrones) relativamente pequeñas, a veces estas no son representativas de las condiciones estructurales del horizonte estudiado, y en suelos sumamente arenosos o limosos es difícil disponer de terrones para realizar la determinación. Además, el riesgo para el trabajador y el ambiente por la manipulación del mercurio durante el procesamiento, es alto. Por este motivo el método fue discontinuado de los laboratorios de suelos. Como métodos alternativos se usa el método clásico de la parafina o el del cilindro de volumen conocido.

## Método de la Parafina para suelo no perturbado

Consiste en introducir un “terrón” de suelo secado al aire, de peso conocido,  $P(g)_{TS}$  y tamaño adecuado en un baño de parafina fundida hasta que el mismo esté completamente cubierto o impermeabilizado. Una vez enfriado el Terrón impermeabilizado se pesa al aire,  $P_{TI}(aire)$  y seguidamente sumergido en agua destilada,  $P_{TI}(agua)$ .

### Equipos y materiales

- Balanza analítica de 0,001 g
- Plancha de calentamiento con magneto, parafina sólida

### Cálculos

Según la definición de densidad aparente dada anteriormente se tiene que:

$$d_{aparente} = \frac{P(g)_{TS}}{V(mL)_{Terrón}} = \frac{P_{TS}}{(P_{TI}(aire) - P_{TI}(agua)) - \left( \frac{P_{TI} - P_{TS}}{d_{parafina}} \right)}$$

## Método para suelos perturbados

Este método se utiliza cuando no es posible la obtención de un terrón de suelo no perturbado como es el caso de suelos muy arenosos o muy limosos, los cuales no desarrollan agregados estables. Igualmente es útil para suelos utilizados en viveros e invernaderos, los cuales no contienen terrones ya que son sueltos y desmenuzados.

### Procedimiento

Se pesa un cilindro graduado de 100 mL, el cual es llenado hasta la marca con el suelo perturbado, compactando periódicamente golpeando el fondo del cilindro con la palma de la mano. Una vez lleno el cilindro con el suelo se pesa. El peso del cilindro lleno menos el peso del cilindro vacío es el peso del suelo contenido en el  $P_{SH}$ . Se debe determinar separadamente la humedad de la muestra y se calcula el peso de 100 mL de suelo secado al horno (105 °C/ 12 h),  $P_{SS}^{105}$

### Cálculos

$$d_a = \frac{P_{SS}^{105}(g)}{100(mL)}$$

## Comentarios

Valores de densidad aparente entre 1,0 y 1,6 indica una condición física del suelo favorable para el crecimiento de las plantas. Hay buena estructura y un espacio de poro que permite un balance aire/agua. Valores inferiores a 1,0 se pueden encontrar en la primera capa de suelos con contenidos altos de materia orgánica, especialmente aquellos que reciben grandes dosis de enmiendas orgánicas como gallinaza, compost, entre otros. Tal es el caso de los suelos cultivados de los Andes Merideños, los cuales reciben estas enmiendas dos veces al año.

En el Cuadro AA2 se muestra la interpretación de los datos de densidad aparente del suelo. Valores superiores a 1,7 y hasta 2,0 g mL<sup>-1</sup> indican una pobre condición física del suelo para el crecimiento de las plantas, son suelos compactos con porosidad pequeña. Sin embargo, estos valores son más frecuentes en las capas más profundas del suelo. Por lo general, los suelos de textura gruesa presentan altos valores de densidad aparente, los suelos de textura arenosa o arena limosa pueden presentar densidades aparentes entre 1,2 y 1,8 g mL<sup>-1</sup> y los franco limosos, franco arcillosos y arcillosos pueden presentar densidades aparentes entre 1,0 y 1,6 g mL<sup>-1</sup>.

Cuadro AA2. Interpretación de los datos de densidad aparente

Densidad aparente	Tipo	Observaciones
< 1,40	Baja	
1,40 – 1,60	Buena	
1,60 – 1,80	Alta	Comienzo de compactación
> 1,80	Muy alta	

## **Determinación de la Conductividad Eléctrica Específica, CEE**

### Principio

La conductividad eléctrica es uno de los parámetros físicos más importantes en la caracterización de los suelos ya que la misma está relacionada con la cantidad de sales disueltas, y es una medida de la capacidad de las soluciones para conducir la corriente eléctrica. Esta corriente es transportada por los iones cargados que provienen de la disociación de las sales en la solución del suelo. Así, mientras mayor es el contenido de sales mayor será la conductividad.

En la práctica se mide la llamada “Conductividad Eléctrica Específica” (CEE)<sup>29</sup>, de un extracto de saturación, ya que es considerado como el medio que da la mejor representación de las condiciones

---

<sup>29</sup> Según la ley de Ohm la resistencia de un conductor se define como  $R = \rho \times \frac{l}{A}$ , donde  $l/A$  representa la geometría del conductor y  $\rho$  es su resistividad específica en unidades de  $\Omega \times m$ .  $\rho$  depende de la naturaleza del conductor o sustancia y se define como: la resistencia que ofrece un cubo de sustancia de 1 cm. La resistividad específica se define como:  $\rho = \frac{1}{\gamma}$  donde  $\gamma$  representa la CEE con unidades de  $\Omega^{-1} \times m^{-1}$ . El inverso de los ohmios se le denomina “mho” o siemen,  $S$ . De esta manera:  $\Omega^{-1} = mho = S$

actuales del suelo con respecto al ambiente donde se desarrolla la planta. Por lo tanto, la CEE se mide a partir de un extracto acuoso, preparado de la pasta de saturación. Como la CEE del extracto de saturación tiene en cuenta la capacidad máxima de retención de agua del suelo, los valores de interpretación se toman independientemente de las clases texturales.

### Materiales y equipos

Existen en el mercado instrumentos que miden la conductividad previa calibración con patrones conocidos de KCl u otras sales. Uno de estos es el bien conocido pHmetro-conductímetro que puede medir los dos parámetros con sólo cambiar de electrodo y la función del instrumento, además de traer incorporado la corrección de temperatura. Para otros materiales ver preparación de la pasta de saturación en el método para la humedad a saturación.

### Calibración del conductímetro

En el Cuadro AA3 se dan las CEE de algunas soluciones de KCl, patrón con las cuales se puede calibrar el instrumento, sin embargo el procedimiento INIA utiliza la solución decimolar. Para la medición se toman 30 ml de la solución estándar de KCl 0,01 M en un beaker de 50 ml y se introduce el sensor de temperatura del conductímetro. Se enjuaga la celda con la solución estándar de KCl y se sumerge en la solución.

Cuadro AA3. CEE de diferentes soluciones de KCl

<i>M KCl</i>	<i>mol L<sup>-1</sup></i>	<i>mS cm<sup>-1</sup> (0 °C)</i>	<i>mS cm<sup>-1</sup> (18 °C)</i>	<i>mS cm<sup>-1</sup> (25 °C)</i>
1		65,17	97,83	111,34
0,1		7,14	11,17	12,86
0,01		0,78	1,22	1,41

Fuente: G. Castellan, 1987. Físicoquímica, 2da Ed., cap. 31, p 811

### Procedimiento

Se prepara un extracto de saturación según procedimiento descrito en el método para la determinación de la humedad a saturación. Una vez preparado el extracto se transfiere a un embudo Buchner con un papel filtro de lenta filtración, aplicar succión y recolectar el filtrado. Repetir el filtrado hasta obtener una solución clara. Se sumerge la celda en el extracto y se lee la conductividad en el dial. El extracto debe ser diluido, si la lectura de conductividad sobrepasa el rango del aparato utilizado.

### Forma de expresion de resultados

La CEE se puede reportar en diferentes unidades como milisiemens por cm,  $mS\ cm^{-1}$  (unidad actual) o en milimhos por cm. Ambas unidades tienen el mismo valor numérico. Igualmente se usa el siemens por metro,  $S\ m^{-1}$ , siendo la equivalencia  $1\ S\ m^{-1} = 10\ mmhos\ cm^{-1}$ .

$$1\ \frac{mS}{cm} = 1\ \frac{dS}{m} = 1\ \frac{mmho}{cm}$$

Debido a que la conductividad de una solución aumenta con el incremento de la temperatura, los valores medidos deben estar referidos a la misma temperatura. Según la norma CEE la medición se debe realizar a 25°C.

### Interpretaciones

Los cultivos son diferentes en su sensibilidad al contenido de sales. Para la interpretación de resultados, ver el USDA Agric Hand Book N° 60 (1954). En el Cuadro AA4 se plantean unas interpretaciones de carácter general.

Cuadro AA4. Interpretaciones de los datos de conductividad

CEE (mmhos/cm) a 25°C	Respuesta de los cultivos
0-2	Efectos despreciables de la salinidad
2-4	Los rendimientos de los cultivos muy sensibles pueden ser restringidos
4-8	Rendimientos de muchos cultivos son restringidos
8-16	Sólo cultivos tolerantes rinden satisfactoriamente
> 16	Poquísimos cultivos tolerantes rinden satisfactoriamente

Puede estimarse el contenido total de sales, a partir de los valores de la CEE del extracto saturado, utilizando relaciones empíricas que trabajan bien para extractos de saturación con conductividades menores de 20 mmhos/cm. Para concentraciones salinas mayores ocurren desviaciones importantes. Las relaciones esenciales se hallan resumidas en las ecuaciones siguientes:

$$C_{sales}\left(\frac{mg}{L}\right) = 640 \times CEE\left(\frac{mS}{cm}\right)$$

$$C_{sales}\left(\frac{meq}{L}\right) = 10 \times CEE\left(\frac{mS}{cm}\right)$$

## Granulometría

El análisis granulométrico de una muestra de suelo, no merece muchos comentarios ya que se conoce bien y está normalizado desde hace tiempo en Venezuela por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, INIA. Bastará aquí recordar algunos principios básicos y algunas informaciones complementarias relativas al recuento directo de partículas (*método INIA para la Granulometría*), la observación microscópica y la separación de las fracciones coloidales.

### Ley de Stokes de la sedimentación

Después de la destrucción de los cementos orgánicos, la muestra se pone en suspensión en medio acuoso (*relación suelo/agua destilada entre 10 y 20 g/L para suelos muy pobres en arcilla*). En su sedimentación, las partículas se someten entonces a dos fuerzas esenciales: una es la fuerza de la gravedad que las obliga a caer hacia abajo y la otra es la resistencia viscosa del medio opuesta al desplazamiento descendente. *Considerando las partículas como esferas de radio  $r$* , la fuerza de la gravedad,  $F_g$  (dinas) se expresa por:

$$F_g = \frac{4}{3} \pi \times r^3 \times g \times (\rho_s - \rho_f)$$

$r$  = radio de la partícula esférica en cm

$g$  = constante de gravitación,  $981 \text{ cm s}^{-2}$

$\rho_s$  = densidad de las partículas en  $\text{g cm}^{-3}$  (entre 2 y 2,8 para los minerales comunes en los suelos)

$\rho_f$  = densidad del líquido de dispersión en  $\text{g cm}^{-3}$

La fuerza de resistencia del medio  $F_r$  (dinas) se expresa por:

$$F_r = 6\pi \times r \times \eta \times \vec{v}$$

$V$  = velocidad de caída en  $\text{cm s}^{-1}$

$\eta$  = viscosidad del medio en Poises ( $\text{g cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), a la temperatura dada.

Al equilibrio, las fuerzas  $F_g$  y  $F_r$  son iguales y las partículas dejan de caer. Mientras que  $F_g$  es superior a  $F_r$ , se deduce su velocidad de caída según la ley establecida por Stokes (1851).

$$\vec{v} = \frac{2 \times r^2 \times g \times (\rho_s - \rho_f)}{9\eta}$$

En los cálculos se elige la masa volumétrica media de las partículas sólidas en las dispersiones de suelos a menudo se usa la del cuarzo a  $\rho_s = 2,65$  ó  $2,60 \text{ g cm}^{-3}$ , pero las arcillas hidratadas tienen densidades menores y su velocidad de caída puede ser rápidamente nula. Se establecieron algunas relaciones empíricas para el cálculo de  $\rho_f$  y  $\eta$  en las soluciones acuosas de hexametáfosfato (ver Cuadro AA5), generalmente utilizadas para la granulometría de los suelos (Gee y Bauder, 1986).

$$\rho_t = \rho_0(1 + 0,630 \times C_{HMP})$$

$$\eta = \eta_0(1 + 4,25 \times C_{HMP})$$

$\rho_0$  = masa volumétrica (densidad) del agua ( $g\ cm^{-3}$ ) a la temperatura de trabajo;

$\eta_0$  = viscosidad del agua (poises) a la temperatura de trabajo;

$C_{HMP}$  = concentración en hexametáfosfato en  $g\ cm^{-3}$

Dado que  $\eta$ ,  $\rho_s$ ,  $\rho_f$ , y  $g$  son constantes, su producto también será otra constante y la ecuación de Stokes para la velocidad se puede escribir como:

$$\vec{v} = C \times r^2$$

Donde  $C$  se define como la constante de Stokes por la siguiente expresión:

$$C = \frac{2 \times g \times (\rho_s - \rho_f)}{9\eta} \ [cm^{-1} \times s^{-1}]$$

y puede tomar valores de 34,722, 40,280 o 49,603  $cm^{-1}\ s^{-1}$  dependiendo si la temperatura de la suspensión es de 20, 25 o 35 °C respectivamente.

Las ecuaciones anteriores ponen de manifiesto que la velocidad de caída es proporcional al cuadrado del radio de la partícula y a la diferencia de densidad entre la partícula y el medio de suspensión la cual sigue siendo constante durante la sedimentación. A medida que la partícula es más pequeña, mayor será el tiempo requerido para su sedimentación.

Si la velocidad se define como:

$$\vec{v} = \frac{h}{t}$$

donde  $t$  es el tiempo (s) requerido por las partículas de radio  $r$  (cm) para caer de una altura  $h$  (cm). De esta manera el tiempo de sedimentación estará dado por:

$$t = \frac{9 \times \eta \times h}{2 \times r^2 \times g \times (\rho_s - \rho_f)} = \frac{h}{C \times r^2} = \frac{h}{\vec{v}}$$

*Ejemplo:* Determinar el tiempo de sedimentación de la fracción arena con diámetro superior a 50  $\mu m$  a una temperatura de 25 °C y para 10 cm de caída. La constante de Stokes para 25 °C es de 40,28  $cm^{-1}\ s^{-1}$

Si el diámetro es de 50  $\mu m$  o 0,005 cm el radio será de:

$$r = \frac{0,005\text{cm}}{2} = 2,5 \times 10^{-3}\text{cm}$$

La velocidad de sedimentación será de:

$$\vec{v} = C \times r^2 = 40,28\text{cm}^{-1}\text{s}^{-1} \times (0,0025\text{cm})^2 = 2,52 \times 10^{-4} \frac{\text{cm}}{\text{s}}$$

De esta manera, el tiempo de sedimentación para estas partículas será de:

$$t = \frac{h}{\bar{v}} = \frac{10\text{cm}}{2,52 \times 10^{-4} \frac{\text{cm}}{\text{s}}} = 39721,95\text{s} \Rightarrow 11,03\text{h}$$

De manera que habrá que esperar 11 horas con 18 minutos.

Cuadro AA5. Masas volumétricas ( $\rho$  densidades) y viscosidades del agua ( $\eta$ ) y soluciones de hexametáfosfato 5% en función de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ); constante de Stokes  $C$  correspondientes y tiempo de caída  $t$  de una altura de 10 cm para las partículas arcillosas de  $2 \mu$  ( $d = 2,60 \text{ g cm}^3$ )

$\theta$	$\rho$ agua	$\eta$ agua Poise	$\rho$ corregido (eq. 2 ; $C_{HMP} = 0,05 \text{ g cm}^{-3}$ )	$\eta$ corregido (eq. 2' ; $C_{HMP} = 0,05 \text{ g cm}^{-3}$ )	$C$ (agua)	$C$ ( $C_{HMP} =$ $0,05 \text{ g cm}^{-3}$ )	$t$ (eq. 3) para $h = 10 \text{ cm}$ $r = 0,0001 \text{ cm}$ $C_{HMP} = 0,05$
$^{\circ}\text{C}$	$\text{g cm}^{-3}$	$\text{g cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$\text{g cm}^{-3}$	$\text{g cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$\text{cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$\text{cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$	horas-min
15	0,999126	0,01139	1,030598	0,01381	30640	30038	9-15
16	0,99897	0,01109	1,030438	0,01345	31472	30853	9-00
17	0,998802	0,01081	1,030264	0,01311	32290	31656	8-46
18	0,998623	0,01053	1,030080	0,01277	33153	32502	8-33
19	0,998433	0,01027	1,029884	0,01245	33996	33329	8-20
20	0,998232	0,01002	1,029676	0,01215	34849	34165	8-08
21	0,998021	0,009779	1,029459	0,01186	35712	35012	7-56
22	0,997799	0,009548	1,029230	0,01158	36581	35864	7-45
23	0,997567	0,009325	1,028990	0,01131	37462	36727	7-34
24	0,997325	0,009111	1,028741	0,01105	38347	37596	7-23
25	0,997074	0,008904	1,028482	0,01080	39245	38476	7-13

### Condiciones para la aplicación de la ley de Stokes

La constante de Stokes se establece para minerales de densidad media entre 2,60 y 2,65 mientras que algunos de los minerales del suelo pueden tener una densidad del orden de 2,1 a 2,7, y la montmorillonita de 1,7 a 2. Pero la principal dificultad procede más que todo del hecho que las partículas no son ni esféricas, ni lisas, lo que obliga a introducir el concepto de *radio equivalente*.

### Fuentes de error

Un protocolo riguroso es condicionado por la estabilidad de la temperatura durante el período de sedimentación. Por estas razones, a falta de termostato, el trabajo en una sala climatizada sigue siendo la mejor solución. Otras causas de errores pueden ser:

- entrada demasiado brusca de la pipeta en la suspensión
- error sobre la profundidad de extracción
- aspiración irregular y demasiado rápida

Algunos autores recomiendan un tiempo de aspiración de 20 segundos para un volumen de 10 mL. Estas condiciones excluyen la aspiración bucal. En el Cuadro AA6 se muestra tiempo de extracción de las partículas ( $d = 2,65$ ) por sedimentometría a la pipeta Robinson-Köhn a 10 cm de profundidad.

Cuadro AA6. A la derecha, tiempo de extracción de las partículas ( $d = 2,65$ ) por sedimentometría a la pipeta Robinson-Köhn a 10 cm de profundidad. A la izquierda, profundidad de extracción de la fracción "arcilla de granulometría" (o sea de diámetro aparente inferior a  $2 \mu m$ ) en función del tiempo.

Arcilla $\leq 2 \mu m$				Temperatura	Arcilla $\leq 2 \mu m$	Limo fino $\leq 5 \mu m$	Limo mediano $\leq 20 \mu m$	Limo grueso $\leq 50 \mu m$
Profundidad de extracción en cm después de				T°C	Tiempo de caída a 10 cm			
5 H	6 H	7 H	8 H		Hora min	Hora-min-S.	Hora-min-s	
6,2	7,5	8,8	10,0	20°	8 H 00 min	1 H 16 min 48s	0 H 04 min 48s	0 min 47s Tiempo demasiado corto para el muestreo
6,4	7,7	9,0	10,3	21°	7 H 48 min	1 H 15 min 00s	0 H 04 min 41s	
6,5	7,9	9,2	10,5	22°	7 H 37 min	1 H 13 min 12s	0 H 04 min 34s	
6,7	8,1	9,4	10,8	23°	7 H 26 min	1 H 11 min 30s	0 H 04 min 28s	
6,9	8,3	9,7	11,0	24°	7 H 16 min	1 H 09 min 54s	0 H 04 min 22s	
7,0	8,5	9,9	11,3	25°	7 H 06 min	1 H 08 min 18s	0 H 04 min 15s	

### Concepto

La distribución de partículas expresa la clasificación de éstas por rango de tamaño presentes en el suelo. Las proporciones son usualmente representadas por número relativo de partículas dentro de las clases de "tamaño" establecidas, o por el peso relativo de estas clases.

La clasificación y la denominación de las fracciones de acuerdo con el Sistema Internacional y el Sistema del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Soil Survey Staff, 1951) se presenta en el Cuadro AA7. El sistema USDA ha sido adoptado para el trabajo en todos los laboratorios del país.

Cuadro AA7. Clasificación de los diversos tamaños de partículas

Fracción	Tamaño (Sist. USDA)	Tamaño (Sist. internacional)
Arcilla (A)	<2 $\mu$	<2 $\mu$
Limo (L)	2-50 $\mu$	2-20 $\mu$
Arena (a)	0,05 -2 mm	0,02 -2mm
Arena muy fina (AMF)	0,05-0,1 mm	
Arena fina (AF)	0,1-0,25 mm	0,02-0,2 mm (fina)
Arena media (AM)	0,25-0,50 mm	
Arena gruesa (AG)	0,50-1mm	0,2- 2mm (gruesa)
Arena muy gruesa (AMG)	1-2mm	

Siguiendo el Sistema USDA, se establece la clasificación textural, mediante el triangulo textural del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos mostrado en la Figura AA1.

## Principio

El método consiste en la separación de las partículas del suelo en varias fracciones separadas por diámetros de partículas y la determinación de la proporción relativa de cada una de esas fracciones. La obtención de las fracciones se realiza por sedimentación de las partículas en suspensión a una determinada profundidad y tiempo controlados (Cuadro AA6). El proceso de sedimentación, tiene su basamento en la Ley de Stokes, explicada anteriormente, la cual establece la relación entre los diámetros de partículas y su velocidad de caída en medio líquido.

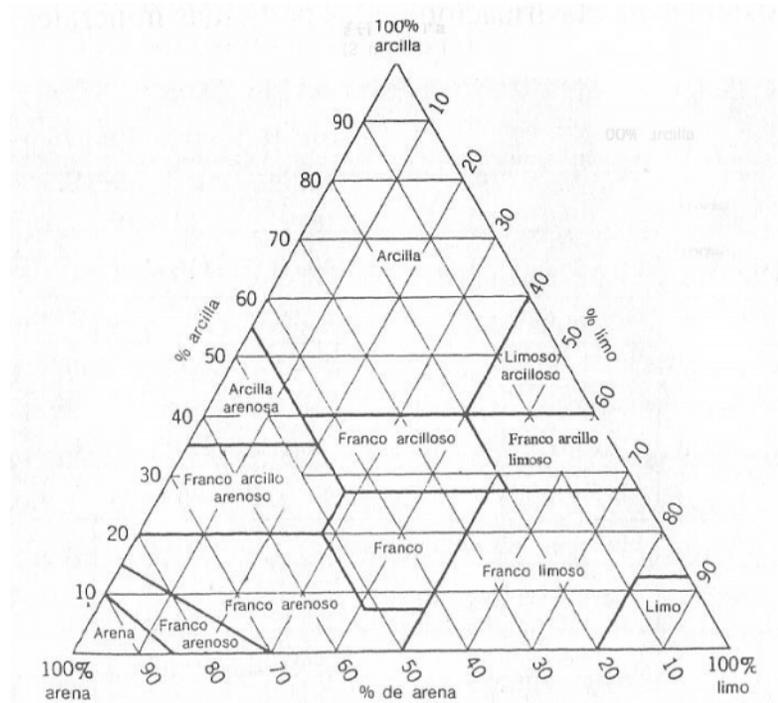


Figura AA1. Triángulo Textural (USDA)

## *Equipos, materiales y reactivos*

- Baño María y plancha de calor
- Agitador Recíproco
- Juego de tamices de 20 cm de diámetro. Tamiz de 50  $\mu\text{m}$  de 8 cm
- Cilindros de sedimentación graduados de 1 litro y embudos
- Estufa de secado y recipientes de humedad
- Botellas plásticas para agitación de 350 mL y matraz aforado de 1 litro
- Pipetas: de 10 y 25 mL
- Vasos de precipitado de 250 mL y varillas agitadoras con policía de goma
- Peróxido de Hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 30%
- Agente dispersante: Hexametáfosfato de Sodio al 4% más Carbonato de Sodio

Disolver en 1 litro, 35,7 g de Hexametáfosfato de Sodio y 7,94 g de Carbonato de Sodio anhidro.

### Procedimiento

El pre-tratamiento de la muestra es de fundamental importancia en este análisis para conseguir la dispersión total de las partículas. Por lo tanto, los materiales cementantes (usualmente de origen secundario) como materia orgánica y carbonato de calcio son previamente eliminados, y en algunos casos también los sesquioxidos necesitan ser removidos.

### Corrección por Dispersante:

En el cilindro de 1 litro, se colocan 10 mL del agente dispersante, se lleva a volumen y se agita bien. Al día siguiente se toma una alícuota de 25 mL de esa solución y se coloca en recipientes de humedad y se seca en estufa. El peso obtenido, se corresponde con la corrección por concepto de dispersante (*dcd*), que interviene en el cálculo de la fracción arcilla.

### *Fracción mayor de 2 mm*

De la muestra de suelo secada al aire se toma una alícuota que después de pesada se somete a una disgregación mecánica cuidadosa utilizando un mortero con mazo de madera, después de este tratamiento, se pasa a través de un tamiz de 2 mm.

La fracción fina se reserva para los posteriores análisis y la gruesa, retenida en el tamiz (N° 10), se seca y se pesa. El peso de la fracción gruesa referido a 100 gramos de suelo representa el porcentaje de fracción mayor de 2 mm en la muestra considerada.

### *Fracción menor de 2 mm (Distribución del Tamaño de Partículas)*

Se toman 10 gramos de suelo, (fracción menor de 2 mm) a los cuales se les elimina la materia orgánica por sucesivos tratamientos con agua oxigenada 30% (100 volúmenes), primero en frío y luego en caliente. Algunos autores (Rouiller *et al.*, 1972) propusieron utilizar una combinación del hipoclorito de sodio a ebullición para la oxidación de los constituyentes orgánicos. Seguidamente se lava sobre un filtro de porcelana porosa con suficiente agua destilada hasta la eliminación total de las sales solubles. Después de secado el suelo, se pesa y a este peso del suelo libre de materia orgánica y sales solubles se refieren en porcentajes los pesos de las distintas fracciones que lo componen.

El suelo así preparado se somete a dispersión durante 7 horas de agitación utilizando como agente dispersante una solución de metafosfato de sodio. Para ello, se agrega 10 mL de dispersante. El suelo dispersado se pasa por un tamiz N° 300, que permite separar la fracción arena (mayor de 0,05 mm) de las fracciones de limo y arcilla.

La fracción arena después de secada y pesada se fracciona usando los correspondientes tamices, y el peso de cada una de estas fracciones se expresa en porcentajes con respecto al peso total del suelo, y la suma de estos porcentajes nos da el porcentaje de arena total que utilizaremos para la clasificación textural del suelo.

Las fracciones de limo y arcilla se llevan al volumen de 1 litro en un cilindro de sedimentación del cual se toma una alícuota de 25 mL (con una pipeta Lowy), a la profundidad y al tiempo calculado por la fórmula de Stokes de tal forma que en esta alícuota solamente existe arcilla. Eliminada el agua

por evaporación y deducido el peso del dispersante [dcd], se calcula el **porcentaje de arcilla en la muestra**. Conocidas las cantidades de arena y de arcilla se calcula por diferencia la cantidad de limo.

### Eliminación de Sales Solubles

Separar cuidadosamente el líquido sobrenadante claro y añadir nuevamente agua, hasta un volumen aproximado de 200 mL y calentar hasta ebullición durante 1 hora para eliminar el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> remanente. Retirar el vaso de precipitado de la plancha caliente y déjelo enfriar. Repita la operación de lavado de sales, hasta que detecta la ausencia de sales solubles y observar el comienzo de la dispersión de las partículas. Se puede Utilizar la centrífuga para sedimentar las partículas dispersas, o para reducir el volumen de agua.

Se vierte el sedimento en un vaso de precipitado tapado (previamente pesado), se coloca en la estufa a 105 - 110°C por 12 horas, luego se retira, se coloca en desecador para enfriar y pesar. Este peso corresponde con el peso de la muestra de suelo ( $P_{m_{s1}}$ ).

### Dispersión

Se añaden 200 mL de agua para dispersar de nuevo el sedimento en el fondo del vaso y se transfiere cuantitativamente la suspensión a un frasco plástico de 350 mL. Se Agregan 10 mL de agente dispersante y agua hasta un volumen aproximado de 160-180 mL. Tapar la botella y gitar durante 7 horas en un agitador de vaivén (recíproco).

### Separación de las Fracciones

Una vez agitada la muestra en suspensión se pasa a través del tamiz de 47  $\mu\text{m}$  (300 mallas), el cual es colocado en un embudo sobre el cilindro de sedimentación. Repita la operación de lavado de la fracción de arena (sobre el tamiz) hasta asegurarse que todo el limo y la arcilla, han pasado al cilindro de sedimentación.

Sobre el tamiz, será retenida toda la fracción de arena. Transfírela a un recipiente de aluminio previamente pesado. Coloque en estufa. Evapore y seque a 105°C por una hora o hasta peso constante. Colocar en el desecador para enfriar y pesar. Esta fracción se corresponderá con la fracción de arena total (notar como *b*).

### Determinación de las Fracciones de Arena

Se transfiere la fracción de arena seca a un juego de tamices de: 1000  $\mu\text{m}$  (AMG); 500  $\mu\text{m}$  (AG); 250  $\mu\text{m}$  (AM); 100  $\mu\text{m}$  (AF); 50  $\mu\text{m}$  (AMF) y se agita mecánica o manualmente. Se colocan las fracciones de arena remanente en cada tamiz en recipientes de aluminio numerados y previamente pesados. Las fracciones individuales de arena (AMG - AMF) se pesan con 0,01 g de precisión.

### Determinación de Limo y Arcilla

Llevar a volumen de 1 litro la suspensión, sellar el cilindro de sedimentación con un tapón de goma y agitar manualmente. Se coloca el cilindro sobre la mesa se quita el tapón y se toma el tiempo de comienzo de la sedimentación para cada cilindro (Cuadro AA8). Al cabo de 2,5 horas se toma la temperatura de la suspensión para establecer el tiempo requerido para la sedimentación a 7 cm de profundidad de toda la fracción de limo de la suspensión.

Cuadro AA8. Tiempos de sedimentación en función de la temperatura

t °C	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tiempo	5h 34'	5h 27'	5h 20'	5h 12'	4h 4'	4h 57'	4h 51'	4h 45'	4h 38'	4h 32'	4h 26'

### Determinación del contenido de Arcilla (Fracción d)

Una vez transcurrido el tiempo establecido, se introduce la pipeta de 25 mL sobre el soporte graduado hasta una profundidad de 7 cm, medidos desde la superficie de la suspensión. Abrir la pipeta y muestrear 25 mL de la suspensión. La alícuota de 25 mL muestreada, se transfiere a un recipiente de aluminio previamente pesado, se coloca en la estufa a 105 – 110°C por una noche. Sacar de la estufa y dejar enfriar en desecador y finalmente pesar.

Al valor de este de contenido de arcilla, se le resta el valor correspondiente a la corrección por dispersante (*dcd*), generalmente 0,011 a 0,012 g, cuando se trabaja con hexametáfosfato. El peso, representa el contenido de arcilla en una alícuota de 25 mL. Para calcular el contenido total de la fracción arcilla (< 2 μm) en el volumen total de 1 litro, se multiplica por 40 (ver cálculo anexo). La fracción de limo, (*c*) se obtiene por diferencia. Las pesadas, se llevan a cabo en balanza analítica, con precisión de 0,001 g (1 mg).

### Cálculos

Los resultados finales se expresan en% con base en peso de muestras secas en estufa, pesadas después de todos los tratamientos. Notar este peso como "*Pm<sub>tratada</sub>*", peso de la muestra tratada.

$$Pm_{tratada} = P_{Arena} + P_{Limo} + P_{arcilla}$$

$$\frac{g_{arcilla}}{l} = \frac{Xg_{arcilla}}{25ml} \times \frac{1000ml}{l} = Xg_{arcilla} \times 40l^{-1}$$

$$g_{Limo} = Pm_{trata} - (P_{arena} + P_{arcilla})$$

### Porcentaje fracciones:

$$\% Arena = \frac{P_{arena}}{Pm_{tratada}} \times 100, \quad \% Limo = \frac{P_{Limo}}{Pm_{tratada}} \times 100, \quad \% arcilla = \frac{P_{arcilla}}{Pm_{tratada}} \times 100$$

### Porcentaje sub fracciones de arena:

$$\% amg = \frac{P_{Fracción(Amg)}}{Pm_{tratada}} \times 100, \quad \% ag = \frac{P_{Fracción(Ag)}}{Pm_{tratada}} \times 100, \quad \% am = \frac{P_{Fracción(Am)}}{Pm_{tratada}} \times 100$$
$$\% af = \frac{P_{Fracción(Af)}}{Pm_{tratada}} \times 100, \quad \% amf = \frac{P_{Fracción(Amf)}}{Pm_{tratada}} \times 100$$

NB: Con estos cálculos, las fracciones de arcilla, limo y arena, se obtienen en % de fracción fina del suelo ( $2 < mm$ ), menos sales solubles y materia orgánica, los cuales fueron removidos. La fracción  $> 2 mm$ , si esta presente, se reporta en % del suelo total. Si todas las fracciones necesitan ser reportadas con base en suelo total, hay que hacer una conversión, teniendo en cuenta la cantidad de suelo destruido con los tratamientos. Todos los porcentajes deben reportarse con dos cifras decimales y su suma debe dar 100.

### Sub-Fracciones coloidales $< 2\mu$

A esta presentación del análisis clásico de granulometría de los suelos, consideramos que es importante añadir referencias sobre la separación de las fracciones coloidales inferiores a  $2\mu$  que pueden ser de utilidad para investigaciones específicas.

Cuando la separación de las partículas tiene por finalidad las determinaciones físicas y químicas, los distintos tratamientos necesarios para poner en suspensión las fracciones muy finas pueden diferir sensiblemente de los métodos del análisis textural rutinario ya que no se deben nunca modificar significativamente los productos secundarios, en particular, arcillas finas e hidróxidos.

En algunos casos, se podrán utilizar una simple puesta en suspensión por ultrasonidos y una desaturación por resina intercambiadora de iones. Los dispersores del tipo hexametáfosfato o pirofosfato deben proibirse. Los criterios de la ley de Stokes se adaptan a la centrifugación y se tendrán los mismos problemas con las partículas cuyas morfología y la velocidad de sedimentación es aleatoria. Al aislar cuantitativamente todas las fracciones, se pueden mejorar la calidad de las determinaciones químicas y físicas.

Las fracciones finas, de tamaño inferior a  $2 \mu$ , se separan previamente de las fracciones gruesas por varios trasiegos, globalmente teniendo en cuenta el tiempo de caída de las partículas. Cinco a seis trasiegos son suficientes para una recuperación cuantitativa. El fraccionamiento de las fases finas se efectúa, debido a los volúmenes puestos pendientes, por medio de una centrifugadora a alimentación continua "per ascensum" compuesta de un tubo vertical que puede rotar a 52.000 revoluciones por minuto. No es aplicable en rutina debido a la complejidad de las operaciones, o en el caso de muestras frágiles y difíciles a mantener en suspensión.

### Método de Bouyoucos o método del hidrómetro

El uso de tamices para el análisis granulométrico es práctico sin embargo puede ser inexacto en algunos casos debido a que no garantiza la completa destrucción de los agregados en el suelo. Por otro lado, la dispersión en agua para separar las fracciones limo y arcilla se debe sedimentar y centrifugar lo que lleva tiempo y esta última puede ser un problema cuando no se dispone de centrífuga adecuada.

El método de Bouyoucos (1962) utiliza un *hidrómetro* para determinar las diferentes fracciones de tamaño en el suelo. En el mismo el suelo es dispersado en medio acuoso por medio de un agente dispersante como el hexametáfosfato de sodio durante 12 horas, agitado periódicamente de manera enérgica para separar las diferentes partículas. La suspensión es transferida a un cilindro de 2 litros y se completa el volumen a un litro con agua destilada.

Se agita nuevamente y se coloca cuidadosamente el hidrómetro cuyas lecturas darán los gramos por litro de las fracciones de limo y arcilla y de arcilla sola en dos lecturas. La arena se sedimenta a los 40 segundos y la *lectura del hidrómetro LH*, tomada a ese tiempo determina la cantidad en gramos de limo y arcilla que permanecen en la suspensión. La resta de esta lectura del peso de la muestra da los gramos de arena.

Después de 8 horas la mayoría del limo se ha sedimentado y la lectura del hidrómetro determina la cantidad en gramos por el litro de arcilla. El limo es calculado por diferencia del 100 %.

*Ejemplo:* En un análisis de partículas de una muestra de 50 gramos de suelo, las lecturas del hidrómetro a los 40 segundos y a las 8 horas son 30 y 12 respectivamente. Determinar la clase textural de la muestra.

$$\%arena = \frac{g_{muestra} - LH_{40s}}{g_{muestra}} \times 100 = \frac{50g - 30g}{50g} \times 100 = 40\%$$

$$\%arcilla = \frac{LH_{8h}}{g_{muestra}} \times 100 = \frac{12g}{50g} \times 100 = 24\%$$

$$\%limo = 100\% - (40 + 24)\% = 36\%$$

En la Figura AA1.1 se muestra la aplicación del Triángulo Textural para la determinación de la clase textural de la muestra.

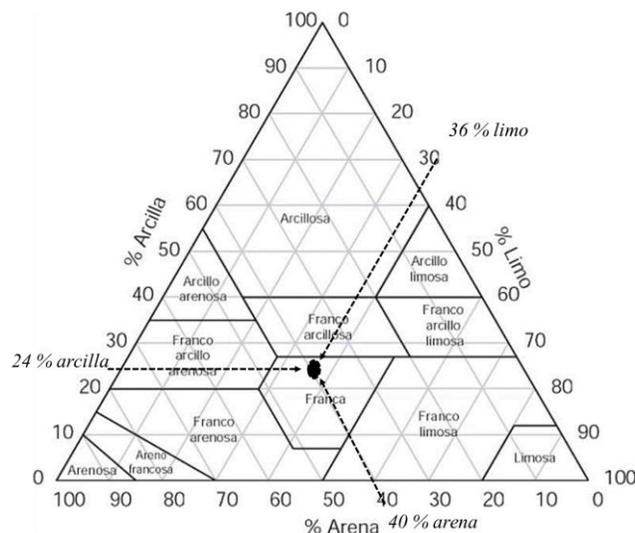


Figura AA1.1.- Resultado del análisis textural: suelo Franco

El principio básico del método de Bouyoucos es la velocidad diferenciada de sedimentación de las partículas la cual está definida por la *ley de Stokes* (1851): Las partículas sedimentan en el agua a una velocidad que es directamente proporcional al cuadrado de su diámetro y es inversamente proporcional a la viscosidad del agua.

### Equipos automatizados

Algunos métodos automatizados convienen a las determinaciones repetitivas necesarias para los estudios pedológicos, agronómicos, geológicos o sedimentológicos. Todos se encuentran citados en la bibliografía y nos limitaremos aquí a mencionar los que pueden completar las separaciones por clase de granulometría, determinando la naturaleza mineralógica o química de los constituyentes: microscopía óptica y/o electrónica, contador de partículas y analizador de imágenes.

Los métodos directos se basan en la utilización de la microscopía óptica, o eventualmente, de la microscopía electrónica. Se opera sobre fracciones aisladas por gravedad. La microscopía permite observar directamente la población de partículas y sus parámetros morfológicos. Se pueden definir, sobre micromuestras, la forma y la longitud, la anchura, el grosor o el diámetro. La comparación de las partículas de una misma fracción permite juzgar la calidad de este fraccionamiento (presencia de pruebas de diatomeas voluminosas, de regularidad, influencia de la densidad, entre otras). El recuento puede efectuarse por medio de contador de partículas, de analizador de imagen y textura.

En microscopía electrónica, con una sonda EDX, es posible efectuar análisis químicos y en microscopía óptica, utilizar la radiación infrarroja. Estos métodos ofrecen una gama ancha de posibilidades y permiten establecer porcentajes de masa acumulada, distribución por tamaño de partículas, en términos de masa, superficie específica y en número (0,1 a 300 m).

### **BIBLIOGRAFIA CITADA**

- Gee, G. y J. Bauder. 1986. Particle-size Analysis. pp. 383-411. En: Klute A. (ed) *Methods of soil analysis. Part 1 Physical and mineralogical methods*. American Soc. Agronomy. Soil Sci. Soc. America.
- Pansu, M., J. Gautheyrou y J. Loyer. 1998. *L'analyse du sol - échantillonnage, instrumentation et contrôle*, Masson. Paris.
- Stokes, G. 1851. On the effect of the lateral friction of fluids on the motion of pendulums. *Trans. Cambridge Phil. Soc.*, 9, 8-106.

### **BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA RELACIONADA CON GRANULOMETRÍA**

#### *Generalidades*

- Atterberg, A. 1912. Die mechanische Bodenanalyse und die klassifikation der mineral böden sechwedens. *Int. Mitt. Bodenk.* 2, 312-342.
- Baize, D. 2000. *Guide des analyses courantes en pédologie*. INRA, France. 257 p.
- Barth, H. y S. Shao-Tang. 1991. Particle Size Analysis. *Anal. Chem.* 63, 1R-10R.
- Bouyoucos, G. 1927. The hydrometer as a new method for mechanical analysis of soils. *J. of Soil Sc.* 23, 343.
- Bouyoucos, G. 1935. A hydrometer method for making mechanical analysis of Soils. *Bull. Amer. Ceramic Soc.* 14, 259.

- Bouyoucos, G. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agron. J.* 54, 464-465.
- Casagrande, A. 1934. Die Aräometer-methode zur Bestimmung der Kornverteilung von Boden und anderen Materialien. *Springer J.*
- Chamayou, H. y J. Legros. 1989. *Les bases physiques, chimiques et minéralogiques de la Science du sol*, Tech. Vivantes, ACCT Presses Univ. de France, 593 p.
- De Leenheer, L. y L. Maes. 1952. Analyse granulométrique avec l'hydromètre à chaîne. *Bull. Soc. Belge de Géologie.* 61, 138-164.
- De Leenheer, L. y J. Van Hove. 1956. Werkwijze voor de mechanische analyse met de kettinghydrometer. *Rijksland Bouwhogeschool (Gand).* XXI, 249-274.
- De Leenheer, L., M. Van Ruymbeke y L. Maes. 1955. L'analyse mécanique au moyen de l'hydromètre à chaîne. *Silicates industriels.* Tome XX, (6 – 7), 1-7.
- Delaune, M., M. Reiffsteck y C. Feller. 1991. L'analyse granulométrique de sols et sédiments à l'aide du microgranulomètre sédigraph 5000 et comparaison avec la méthode à la pipette Robinson. *Cahiers ORSTOM sér. Pédol.,* 26, 183-189.
- Gras, R. 1988. *Physique du sol pour l'aménagement*, Masson, Paris.
- Guillet, B. y J. Rouiller. 1979. La granulométrie. pp. 317-321. En Bonneau y Souchier (ed) *Pédologie, constituants et propriétés des sols*. Masson, Paris
- Hénin, S. 1976. *Cours de physique du sol*, vol. 1. Orstom-Editest, Bruxelles
- Jackson, M. 1969. *Soil chemical analysis-advanced course*. 2nd ed. University of Wisconsin, Madison, WI.
- Johnston Farina, M. y J. Lawrence. 1987. Estimation of soil texture from sample density. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 18, 1173-1180.
- Jones, J., J. Kay, J. Park y C. Bishop. 1980. The determination of particle size distribution in soil. A collaborative study. *J. Sci. Food and Agric.* 31, 724-729.
- Loveland, P. y W. Whalley. 1991. Particle Size Analysis. pp. 271-328 En: Smith, K y C, Mullins (ed.) *Soil analysis : physical methods*. Marcel Dekker, London
- Mériaux, S. 1954. Contribution à l'étude de l'analyse granulométrique. *Ann. Agro.* I, 5-53, II, 149-205.
- Pétard, J. 1993. *Les méthodes d'analyse. T1 Analyse de sols*. Notes techniques laboratoires communs d'analyse, Orstom, Nouméa, Paris.
- Rouiller, J., G. Burtin y B. Souchier. 1972. La dispersion des sols dans l'analyse granulométrique. Méthode utilisant les résines échangeuses d'ions. *Bull. ENSAIA, Nancy, France.* 14, 183-204.
- Smith, R. y D. Prat. 1984. The variability in soil particle size test results by various sub sampling techniques. *J. Soil Sci.* 35, 23-26.
- Susini, J. 1978. Réalisation d'un ensemble automatique de lavage des sables de l'analyse granulométrique. *Cah. ORSTOM Série Pédol.* 16, 339-344.
- Syvitski, J. 1991. Principles, methods and applications of particle size analysis. *Cambridge Univ. Press.*
- Tamm, O. 1922. Eine Methode zur Bestimmung der anorganischen Komponenten des Gelkomplexes in Boden. *Meddel. Statens Skogsforskningsanstalt (Suède),* 19, 385-404.
- Van Ruymbeke, M. y L. De Leenheer. 1954. Etude comparative d'analyses granulométriques par décantations successives et par l'hydromètre à chaîne. *Actes et C. R. du Vème Congrès International de la Science du Sol (Leopoldville).* II, 322-328.
- Vieillefont, J. 1979. Contribution à l'amélioration de l'étude analytique des sols gypseux. *Cah. ORSTOM Sér. Pédol.,* XVII, 195-223. X 31-107. 1983. Analyse granulométrique par sédimentation. Méthode de la pipette. In *Qualité des sols 3° Edition, AFNOR,* 357-371.

### *Tratamientos para Eliminación de Materia Orgánica*

- Douglas, L. y F. Fiessinger. 1971. Degradation of clay minerals by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatments to oxidize organic mater. *Clays and clay minerals*. 19, 67-68.
- Fisher, W. 1984. The oxidation of soil organic matter by KBrO for particle size determination. *Commun. in Soil Sci. Plant anal.*, 15, 1281-1284.
- Harada, Y. y A. Inoko. 1977. The oxidation products formed from soil organic matter by hydrogen peroxide treatment. *Soil Sci. Plant Nutr.* 23, 513-521.
- Langeveld, A., S. Van Gaast, y D. Van der Eisma. 1978. A comparison of the effectiveness of eight methods for the removal of organic matter from clay. *Clays and clay minerals*. 26, 361-364.
- Lavkulich, L. y J. Wiens. 1970. Comparison of organic matter destruction by hydrogen peroxide and sodium hypochlorite and its effects on selected mineral constituents. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 34, 755-758.
- Omueti, J. 1980. Sodium hypochlorite treatment for organic matter destruction in tropical soils of Nigeria. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, 878-880.
- Sequi, P. y R. Aringhieri. 1977. Destruction of organic matter by hydrogen peroxide in the presence of pyrophosphate and its effect on soil specific surface area. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 340-342.
- Visser, S. y M. Caillier. 1988. Observations on the dispersion and aggregation of clays by humic substances. I - Dispersive effects of humic acids. *Geoderma*. 42, 331-337.
- Vodyannitskii, Yu N., V. Trukhin y O. Bagina. 1989. The action of perhydral upon iron oxides in soil. *Dokuchzer soil Sci. Inst. (Moscou)*. 1, 20-21.

### *Eliminación de Compuestos Órgano-Minerales*

- Harward, M., A. Theisen y D. Evans. 1962. Effect of iron removal and dispersion methods on clay mineral identification by X-Ray diffraction. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 26, 535-541.
- Mehra, O. y M. Jackson. 1960. Iron oxide removal from soils and clays by a dithiomite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays and clay minerals. Proc. 7th Conf. Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Counc. Pub.* 237-317.

### *Eliminación de Sales Solubles-Yeso*

- Rengasamy, P. 1983. Clay dispersion in relation to changes in the electrolyte composition of dialysed red-brown earth. *J. Soil Sci.* 34, 723-732.
- Rivers, E., C. Hallmark, L. West y L. Drees. 1982. A technique for rapid removal of gypsum from soil samples. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 1338-1340.

### *Puesta en Suspensión - Dispersión - Floculación - pH*

- Balli, P. 1965. Critères de la qualité de la suspension en vue de l'analyse granulométrique. *Science du sol*, 1, 15.
- Bartoli, F., G. Burtin y A. Herbillon. 1991. Disaggregation and clay dispersion of oxisols : Na Resin, a recommended methodology. *Geoderma*, 49, 301-317.
- Brewster, G. 1980. Effects of chemical pretreatment on X-Ray powder diffraction characteristics of clay minerals derived from volcanic ash. *Clays and clay Minerals*. 28, 303-310.

- Colmet-Daage, F., J. Gautheyrou, M. Gautheyrou y C. de Kimpe. 1972. Dispersion et étude des fractions fines des sols à allophane des Antilles et d'Amérique latine. 1ère partie : Techniques de dispersion. *Cah. Orstom, Sér. Pédol.* Vol. X(2), 169-191.
- Demolon, A. y E. Bastisse. 1935. Sur la dispersion des colloïdes argileux. Applications à leur extraction. *Annales Agronomiques*, 1-15.
- Dong, A., G. Chesters y G. Simsiman. 1983. Soil dispersibility. *Soil Science*, 136, 208-212.
- Egashira, K. 1981. Flocculation of clay suspensions separated from soils of different soil type. *Soil Sci. Plant Nutr.* 27, 281-287.
- Forsyth, P., S. Marcelja, D. Mitchell, y B. Ninham. 1978. Stability of clay dispersions. pp 17-25. En Emerson, B. (ed) *Modification of soil structure*. Wiley and Son. London.
- Goldberg, S. y H. Forster. 1989. Flocculation of reference clays and arid soil clays as affected by electrolyte concentration, exchangeable cation percentage, sodium adsorption ratio, pH and clay mineralogy. *Annual Meeting - Clay Minerals Society*, 26, 35.
- Gupta, R., D. Bhumbra e I. Abrol. 1984. Effect of sodicity, pH, organic matter and calcium carbonate on the dispersion behavior of soils. *Soil Sci.*, 137, 245-251.
- Keren, R. 1991. Adsorbed sodium fraction's effect on rheology of montmorillinite-kaolinite suspensions. *Soil Science Soc. Amer. J.*, 55, 376-379.
- Manfredini, T., G. Pellacani, P. Pozzi y A. Corradi. 1990. Monomeric and oligomeric phosphates as deflocculants of concentrated aqueous clay suspensions. *Applied Clay Science*, 5, 193-201.
- Miller, W., H. Frenkel y K. Newman. 1990. Flocculation concentration and sodium/calcium exchange of kaolinitic soil clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 346-351.
- Ohtsubo, M. y M. Ibaraki. 1991. Particle-size characterization of flocs and sedimentation volume in electrolyte clay suspensions. *Applied clay science*, 6, 181-194.
- Oreshkin, N. 1979. Device for tating suspension samples for the particle-size analysis of soils. *Soviet Soil Science*, 4, 136-138.
- Reddy, S. y H. Fogler. 1981. Emulsion stability: determination from turbidity. *J. Colloid interface Sci.* 79, 101-104.
- Reddy, S. y H. Fogler. 1981. Emulsion stability: delineation of different particle loss mechanisms. *J. Colloid Interface Sci.* 79, 105-113.
- Robinson, G. 1933. The dispersion of soils in mechanical analysis. *Bur. Soil Sci. Tech. Comm.* 26, 27-28.
- Shaviv, A., I. Ravina y P. Zaslavsky. 1988. Flocculation of clay suspensions by an anionic soil conditioner. *Applied Clay Science*, 3, 193-203.

### *Dispersión por Ultrasonidos*

- Arustamyants, Y. 1990. Optimizing the ultrasonic preparation of soils for particle-size analysis. *Pochvovedeniye*, 12, 55-68.
- Busacca, A., J. Aniku y M. Singer. 1984. Dispersion of soils by an ultrasonic method that eliminates probe contact. *Soil sci. Soc. Am. J.* 48, 1125-1129.
- Edwards, A. y J. Bremner. 1967. Dispersion of Soil particules by sonic vibrations. *J. Soil Sci.*, 18, 1.
- Feller, C., G. Burtin, y A. Herbillon. 1991. Utilisation des résines sodiques et des ultra-sons dans le fractionnement granulométrique de la matière organique des sols. Intérêt et limites. *Science du sol*, 29, 77-93.
- Gregorich, E., R. Kachandski y R. Voroney. 1988. Ultrasonic dispersion of aggregates: distribution of organic matter in size fractions. *Can. J. Soil Sci.*, 68, 395-403.
- Hinds, A. y L. Lowe. 1980. Dispersion and dissolution effects during ultrasonic dispersion of gleysolic soils in water and in electrolytes. *Canadian J. Soil Sci.*, 60, 329-335.

- Hinds, A. y L. Lowe. 1980. The use of an ultrasonic probe in soil dispersion and in the bulk isolation of organo-mineral complexes. *Canadian J. Soil Sci.*, 60, 389-392.
- Ilnicki, P. y U. Matelska. 1984. Ultrasound application for dispersion of soil samples for particle size analysis. *Roelniki Gleboznaweze*, 35, 15-24.
- Mikhail, E. y G. Briner. 1978. Routine particle size analysis of soils using sodium hypochlorite and ultrasonic dispersion. *Aust. J. Soil Res.*, 16, 241-244.
- Minkin, M., I. Mulyar y A. Mulyar. 1985. An ultrasonic method of analysing of water extracts from soils. *Pochvovedeniye*, 3, 136-140.
- Moen, D. y J. Richardson. 1984. Ultrasonic dispersion of soil aggregates stabilized by polyvinyl alcohol and T 403-glyoxal polymers. *Soil Sci. Soc. Amer.*, J. 48, 628-631.
- Morra, M., R. Blank, L. Freeborn y B. Shafil. 1991. Size fractionation of soil organo-mineral complexes using ultrasonic dispersion. *Soil Sci.*, 4, 294-303.
- Schulze, D. y J. Dixon. 1979. High gradient enzymatic separation of iron oxydes and other magnetic minerals from soils clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43, 793-799.

### *Método Pipeta*

- Andreasen, A. y J. Andersen. 1930. Etude de l'influence de la dilution sur les résultats de l'analyse granulométrique par sédimentation. *Kolloid Z.* 50, 217.
- Bloom, P., K. Meter y J. Crum. 1985. Titration method for determination of clay-sized carbonates. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 49, 1070-1073.
- Godse, N. y A. Sannigrahi. 1988. Comparative study on methods of particle-size analysis for vertisols. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 36, 780-783.
- Indorante, S., L. Follmer, R. Hammer y P. Koenig. 1990. Particle-size analysis by a modified pipette procedure. *Soil sci. Soc. Am. J.*, 54, 560-563.
- Krumbein, W. C. 1935. A time chart for mechanical analyses by the pipette method. *J. of Sedimentary Petrology*, 5, 93-95.
- Miller, W. y D. Mille. 1987. A micro-pipette method for soil mechanical analysis. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 18, 1-15.
- Oreshkin, N. G. 1979. Device for taking suspension samples for the particle-size analysis of soils. *Soviet soil Science (Pochvovedeniye)*, 4, 136-138.
- Richter, M. y H. Svartz. 1984. Análisis granulométrico de suelos en escala reducida. *Ciencia del suelo*, 2, 1-8.
- Shetron, S. G. y C. C. Trettin. 1984. Influence of mine tailing particle density on pipette procedures. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 418-420.

### *Métodos Densimetría- Hidrómetro*

- American Society for Testing and Materials. 1972. Standard test method for particle-size analysis of Soils - D 422-463. *Annual book of ASTM*, 1985.
- Barthokur, N. N. 1986. Clay fraction determinations with Beta-ray gauge. *Comm. in Soil Sci. Plant Anal.*, 17, 533-545.
- Fontes, L. E. 1982. A new cylinder for sedimentation of soil suspension in the determination of the clay fraction by the hydrometer method. *Revista brasileira de Ciencia do Solo*, 6, 152-154.
- Gee, G. W. y J. W. Bauder. 1979. Particle size analysis by hydrometer, a simplified method for routine textural analysis and a sensivity test of measurement parameters. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43, 1004-1007.

- Johnson, J. E., J. A. Bowles, J. A. y J. Knuteson. 1985. Comparison of pretreatments and dispersants on clay determination by the hydrometer method. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.*, 16, 1029-1037.
- Sur, H. y S. S. S. Kvkak. 1992. A modified hydrometer procedure for particle size analysis. *Soil Science*, 153, 1-4.

### *Métodos automatizados*

- Arustamyants, Y. E. I. 1992. Instrumental methods for determining the particle-size composition of Soils. *Scripta Technica*, 101-117.
- Barth, H. G. 1984. *Modern Methods of particle size analysis*. John Wiley, London.
- Cooper, L. R., R. L. Haverland, D. M. Hendricks y W.G. Knisel. 1984. Microtrac particle-size analyzer: an alternative particle-size determination method for sediment and soil. *Soil Science*, 132, 138-146.
- Devyatykh, G. G., Yu. A. Karpov., V. A. Krylov y O. P. Lazukina. 1987. Laser-ultra microscopic method of determining suspended particles in high-purity liquids. *Talanta*, 34, 133-139.
- Hendrix, W. P. y C. Orr. 1970. Automate sedimentation size analysis instrument. *Particle Size analysis*, 133-146.
- Hutton, J. T. 1955. A method of particle size analysis of soils (balance de Plummet). *CSIRO, Report* 11/55.
- Karsten, J. H. M. y W. A. Kotze. 1984. Soil particle analysis with the gamma alternation technique. *Comm. in Soil Sci. Plant analysis*, 15, 731-739.
- Kirkland, J. J. y W. W. Yau. 1983. Simultaneous determination of particle size and density by sedimentation field flow fractionation (FFF). *Anal. Chem.*, 55, 2165-2170.
- Kirkland, J. J., S. W. Rementer y W. W. Yav. 1981. Time-delayed exponential field-programmed sedimentation field flow fractionation for particle-size distribution analysis. *Anal. Chem.*, 53, 1730-1736.
- Marshall, T. I. 1956. A Plummert Balance for measuring the size distribution of soil particles. *Australian J. of Applied Science*, 7, 142-147.
- Mc Connel, M. L. 1981. Particle size determination by quasielastic light scattering. *Anal. Chem.*, 53, 1007-1018.
- Novich, B. E. y T. A. Ring. 1984. Colloid stability of clays using photron correlation spectroscopy. *Clays and Clay Minerals*, 32, 400-406.
- Oakley, D. M. y B. R. Jennings. 1982. Clay particle sizing by electrically induced birefringence. *Clay minerals.*, 17, 313-325.
- Pennington, K. L. y G. C. Lewis. 1979. A comparison of electronic and pipet methods for mechanical analysis of soils. *Soil Science*, 28, 280-284.
- Rybina, V. V. 1979. Use of conductimetry for the determination of the particle-size composition of soils. *Pochvovedeniye*, 7, 134-138.
- Salbu, B., H. E. Bjornstad, N. S. Linstrom y E. Lydersen. 1985. Size fractionation techniques in the determination of elements associated with particulate or colloidal material in natural fresh waters. *Talanta*, 32, 907-913.
- Svarovsky, L. y T. Allen. 1970. Performance of a new X-Ray sedimentometer. *Particle Size Analysis*, 147-157.
- Yang, K. C. y R. Hogg. 1979. Estimation of particle size distributions from turbidimetric measurements. *Anal. Chem.*, 51, 758-763.
- Yonker, C. R., H. K. Jones y D. M. Robertson. 1987. Non aqueous sedimentation field flow fractionation. *Anal. Chem.*, 59, 2574-2579.

### *Separación de fracciones coloidales inferiores a 2 $\mu$*

- Atterberg, A. 1912. Die mechanische bodenanalyse und die klassifikation der mineralböden schwedens. *Intern. Mitt. Bodenk*, 2, 312-342.
- Coca Prados, J. y J. Bueno de las Heras. 1977. Dinamica de particulas en suspensions solido-liquido. I - Sedimentacion de particulas. *Ingeniera quimica*, 153-162.
- Colmet-Daage, F., J. Gautheyrou, M. Gautheyrou, C. de Kimpe, G. Fusil y G. Sieffermann. 1972. Dispersion et étude des fractions fines de sols à allophane des Antilles et d'Amérique latine. IIème partie : Modifications de la nature et de la composition de la fraction inférieure à 2 microns selon la taille des particules. *Cahiers Orstom, série. Pédol.*, X, 219-241.
- Davis, D. S. 1943. Empirical equations and nomography. Mc Graw Hill, 1, 104-114.
- Davis, J. M. 1986. General retention theory for sedimentation Field-Flow-Fractionation. *Anal. Chem.*, 58, 161-164.
- Essigton, M. E., S. V. Mattigod y J. O. Ervin. 1985. Particles sedimentation rates in the linear density gradient. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 49, 767-771.
- Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1967. *Mode opératoire pour l'extraction et la purification de la fraction argileuse < 2  $\mu$ m*. Notes de laboratoire, Orstom-Guadeloupe, mars 1968, 1-9, Orstom.
- Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1982. Fractionnement des systèmes colloïdaux argileux par centrifugation continue. Notes laboratoire Orstom Bondy, 1-38.
- Hauser, E. A y J. E. Lynn. 1940. Séparation and fractionation of colloidal systems, *Ind. Eng. Chem.*, 32, 659-662.
- Hauser, E. A. y C. E. Reed. 1936. Studies in thixotropy. I - Development of a new method for measuring particle-size distribution in colloidal systems. *J. Physical chemistry*, 40, 1169-1182.
- Jackson, M. L., L. D. Whittig y L. Pennington. 1949. Segregation procedure for the mineralogical analysis of soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 14, 77-81.
- Jacobsen, A. E. y W. F. Sullivan. 1946. Centrifugal sedimentation method for particle size distribution. *Ind. Eng. Chem.*, 18, 360-364.
- Jaymes, W. F. y J. M. Bigham. 1986. Concentration of iron oxides from soil clays by density gradient centrifugation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50, 1633-1639.
- Johnson, L. 1956. Particle size analysis and centrifugal sedimentation. *Trans. Bull. Ceram Soc.*, 55, 267-285.
- Kamack, H. J. 1951. Particle size determination by centrifugal pipet sedimentation. *Anal. Chem.*, 23, 844-850.
- Kittrick, J. A. y E. W. Hure. 1963. A procedure for the particle-size separation of soils for X-Ray diffraction analysis. *Soil Sci.*, 96, 5, 319-325.
- Koch, T. y J. C. Giddings. 1986. High-speed separation of large (> 1  $\mu$ m) particles by steric Field-Flow-Fractionation. *Anal. Chem.*, 58, 994-997.
- Marshal, C. E. 1931. Studies in the degree of dispersion of the clays, I - Notes on the technique and accuracy of mechanical analysis using the centrifuge. *Jour. Soc. Chem. Indust.*, SDT, 444-450.
- Muog, E., J. R. Taylor, R. W. Pearson, A. E. Weeks y R. W. Simonson. 1936. Procedure for special type of mechanical and mineralogical soil analysis. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 101-112.
- Rouiller, J., A. Brethes, G. Burtin y B. Guillet, B. 1984. Fractionnement des argiles par ultra-centrifugation en continu : évolution des illites en milieu podzolique. *Sci. Géol. Bull.*, 37, 319-331.
- Saunders, E. 1948. Nomograph for particle size determination with the Sharples supercentrifuge. *Anal. Chem.*, 20, 379-381.

- Schachman, H. K. 1948. Determination of sedimentation constants in the Sharples supercentrifuge. *J. Phys. Colloid. Chemistry*, 52, 1034-1045.
- Tan, K. H. 1996. *Soil sampling, preparation and analysis*. Dekker, 278-361.
- Tanner, C. B. y M. Jackson. 1947. Nomographs of sedimentation times for soil particles under gravity or centrifugal acceleration. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 12, 60-65.
- Tran-Vinh-Ann y E. Ndejuru. 1972. Analyse granulométrique de la fraction argileuse par centrifugation en flux continu. Mise au point d'une méthode et application à quelques sols tropicaux. *Pédologie*, XXII, 366-382.
- Truo, E., J. R. Taylor, R. W. Simonson y M. E. Week. 1936. Mechanical and mineralogical subdivision of the clay separate of soils. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 175-179.
- Whittig, L. D. y W. R. Allardice. 1986. X-Ray diffraction techniques - separation of particle - size fraction. In Klute A., *Method of soil analysis part physical and mineralogical methods*. 2nd. Edition, Amer. Soc. of Agronomy, 340-342.

## FRACCIONAMIENTO FÍSICO DE MATERIAL ORGÁNICO

### Principios

Las selecciones manuales de raíces se utilizan sobre todo para los estudios relacionados con la medición de la biomasa radicular en suelos cultivados. Los fraccionamientos densimétricos se basan sobre las grandes diferencias de densidad entre materias de origen vegetal (densidad inferiores o cercana de 1) y mineral de 2,65 para los minerales primarios a 2 para arcillas e hidróxidos. Constituyen entonces una técnica ideal para separar los fragmentos de origen vegetal en los suelos.

Esta estimación es importante en algunos modelos compartimentales de simulación de la evolución de la materia orgánica. Sin embargo, según los tipos de suelo, los fraccionamientos densimétricos encuentran límites debidos esencialmente a las conexiones íntimas entre partículas minerales y orgánicas. Una mejora puede ser aportada por combinación de densimetría con fraccionamientos por granulometría que se presentan a continuación.

Los fraccionamientos por granulometría apuntan a una separación completa de los constituyentes orgánicos del suelo. Desde este punto de vista ideal, las fracciones gruesas de tamaño superior a 50 micrones contendrían los restos vegetales, las fracciones limosas (50-2 ó 20-2 micrones) contendrían las células y fragmentos microbianos, las arcillas gruesas (2-0,2 micrones) contendrían las materias orgánicas del complejo órgano-mineral, y finalmente se encontrarían los metabolitos de reciente formación en las arcillas finas (menos de 0,2 micrones).

En realidad, la asociación de los microorganismos con los coloides minerales es tal que el fraccionamiento "limpio" de los constituyentes biológicos de los suelos no puede realizarse (Ahmad y Oades, 1984). Los estudios de síntesis (Christensen, 1992; Feller, 1994) permiten sin embargo situar tres grandes clases de materias orgánicas:

- un compartimiento desechos vegetales (> 20  $\mu$ ), con relación C/N (15 a 25) y xilosa/manosa elevado, que corresponden al carácter vegetal de esta fracción orgánica;
- un complejo órgano limoso constituido de una mezcla de desechos vegetales y fúngicos, de partículas minerales y de micro-agregados órgano-minerales muy estables. Las relaciones C/N y xilosa/manosa son menos elevadas.
- un compartimiento órgano-arcilloso (< 2  $\mu$ ) rico en materias amorfas, humificadas y muy vinculadas a las partículas minerales; las relaciones C/N (8 a 11) y xilosa/manosa son más bajas, de acuerdo con un origen más microbiano de estas materias orgánicas.

## Constituyentes orgánicos y estructura del suelo

Los procesos de humificación conducen tanto a productos poco estables constantemente renovados como es el caso de muchos polisacáridos, como también a productos fenólicos muy estables. Los dos tipos de compuestos se asocian a los minerales para formar complejos organo-minerales incluidos como cementos en los micro-agregados. Estos micro forman también entre ellos agregados estructurales incluyendo partículas orgánicas y cuerpos microbianos vivos.

El fraccionamiento depende de las distintas fuerzas de cohesión de la estructura del suelo. En algunos casos, un simple humedecimiento provoca el estallido de los macro-agregados (slaking) y la dispersión de las partículas finas. En otros casos, es necesario emplear técnicas de dispersión más energéticas para liberar los micro-agregados y los fragmentos orgánicos encarcelados en los agregados estructurales.

## Observación óptica del suelo

A simple vista, es posible distinguir en los suelos numerosos restos de origen vegetal (raíces vivas o muertas, fragmentos de fibras de madera, de troncos y hojas) y, en una menor medida, de origen animal (cadáveres, bolitas fecales, heces de lombrices) procedente de la macro fauna (insectos, arácnidos, crustáceos, gasterópodos, entre otros).

Por medio de una lupa, se puede constatar la presencia de fragmentos orgánicos en cantidad creciente con el cambio de escala de observación: filamentos de raíz, restos vegetales y animales parcialmente divididos, nematodos, setas, algas.

Bajo una ampliación óptica más importante, se observa la presencia de otros microorganismos (bacterias, actinomicetales, protozoarios) y de restos de origen animal o vegetal cada vez más incorporadas al coloideo órgano-mineral. La materia orgánica del suelo conjunto heterogéneo, con una serie de fragmentos cada vez más finos, se presta bien a métodos de fraccionamiento físico.

## Dificultades técnicas

Los fraccionamientos por granulometría utilizan técnicas de tamizado, generalmente bajo agua destilada para separar las partículas hasta 50 ó 20  $\mu$ . La separación de las partículas más finas requiere las técnicas de sedimentación similares a las descritas para los minerales limosos o arcillosos. La densidad media de 2,65 utilizada para las partículas minerales de tamaño superior a 20 micrones no conviene a fragmentos orgánicos (Elliott y Cambardella, 1991). Sin embargo, a este nivel de granulometría, la materia orgánica se encuentra asociada a los minerales pero en proporción mínima, lo que no modifica mucho su densidad.

La dificultad principal de los fraccionamientos físicos por densimetría o granulometría procede, sobre todo, de las conexiones íntimas entre minerales y materias orgánicas dentro de los agregados (Figura AA2), que se trata de dividir para liberar los constituyentes elementales sin destruirlos.

En general, las muestras se secan antes del almacenamiento al laboratorio. Este secado, adjuntado a las otras técnicas de preparación de las muestras (Pansu, Gautheyrou y Loyer, 1998), paraliza el funcionamiento biológico del suelo. Es preferible frenar la actividad de los microorganismos por almacenamiento frío o por congelación del suelo fresco.

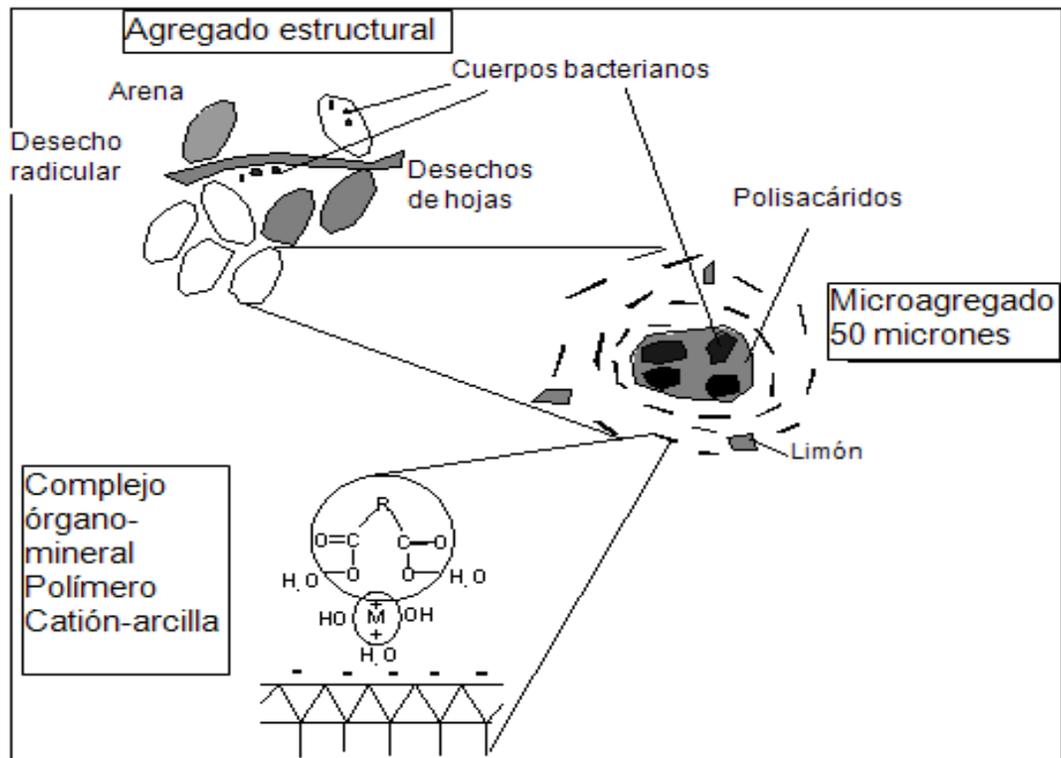


Figura AA2. Formación de los complejos órgano-minerales, de los microagregados y agregados estructurales (según Bruckert, 1994).

### Métodos

Los distintos métodos de fraccionamiento físico de los constituyentes orgánicos pueden clasificarse en tres grandes grupos:

- los métodos de separación cuantitativa de las raíces de las plantas;
- los métodos de separación densimétrica;
- los métodos de fraccionamiento por clases granulométricas.

Para la aplicación de estos métodos conviene recordar cómo se forma la estructura del suelo: las materias orgánicas finas humificadas se asocian a los minerales para formar complejos órgano-minerales. Entonces, toda la dificultad de los fraccionamientos consiste en dividir estos agregados sin destruir los constituyentes que deben ser aislados y estudiados.

### Extracción de las raíces

Este tipo de extracción es útil para determinar la producción de biomasa radicular en el suelo. Ésta representa, en efecto, una de las entradas de carbono más importantes con la exudación radicular y las partes aéreas de los vegetales. Las extracciones de raíces son también útiles para distintas observaciones de fisiología vegetal: clasificación de raíces, estimación de su peso y su longitud, análisis químico, presencia de micorrizas. Se efectúan generalmente las separaciones manualmente, pero también existen varios tipos de aparatos que funcionan por elutriación.

## **Modalidad de realización**

La extracción se refiere a muestras no perturbadas procedente de muestreo de bloques de tierra sin perturbación: el mejor enfoque consiste en lavar las raíces inmediatamente después de vuelta del campo.

El método más simple consiste en un lavado suave de las muestras, previamente separadas en agua sobre un tamiz de malla variable; los autores: Anderson e Ingram (1989) aconsejan un tamiz de 0,5 mm; Abo (1984) recomienda un tamiz de 2 mm.

Los materiales que permanecen sobre el tamiz pueden ser lavados con agua y separados por decantación. El residuo debe a menudo clasificarse a mano bajo el agua en recipientes planos para retirar todos los fragmentos. Este trabajo puede requerir una lupa binocular y de las pinzas muy finas de relojero. La dificultad del trabajo depende mucho también del tipo de suelo y raíces.

Se describió un gran número de máquinas para lavar raíces; la mayoría funcionan por elutriación, es decir, por un lavado de las raíces acompañado de su separación por flotación sobre un tamiz de 0,5 mm situado lejos de las partículas pesadas. Después del fraccionamiento mecánico suelo-raíz, puede ser necesario clasificar manualmente las raíces de los otros desechos orgánicos y esta operación puede durar varias horas. No existe pues máquina "ideal" que suprime los necesarios controles visuales y operaciones manuales.

Todos los métodos de separación conducen a pérdidas de raíces finas y un control periódico de las aguas de lavado y residuos debe efectuarse para cuantificar estas pérdidas. Las raíces lavadas pueden almacenarse en el refrigerador en bolsitas de polietileno selladas pero la congelación es preferible. Una pequeña cantidad de bactericida como el timol puede también añadirse.

Los pesos de materia seca permiten luego determinar el contenido de carbono y nitrógeno orgánico después de un secado a 70°C durante 48 horas. Una calcinación progresiva hasta 550°C, permite determinar el peso de ceniza de las raíces y medir el contenido mineral después de la disolución de los residuos en medio ácido.

## **Dispersión de las partículas orgánicas y minerales**

Luego de la separación de las raíces vivas, el propósito del fraccionamiento es separar los constituyentes orgánicos de los minerales sin destruirlos para poder estudiar sus propiedades.

### *Presentación de las técnicas de dispersión*

Conviene recordar que el objetivo del fraccionamiento granulométrico de los constituyentes orgánicos practicado aquí, es muy diferente del análisis de granulometría del suelo. En el primer caso, se trataba de emplear métodos muy enérgicos para destruir los "cementos" húmicos: destrucción de las materias orgánicas por agua oxigenada, destrucción de las conexiones organo-minerales por agentes acomplejantes de hierro y aluminio como del hexametáfosfato (calgon), el tetraborato o el pirofosfato de sodio.

Tales técnicas no convienen aquí puesto que se desea recuperar los constituyentes orgánicos evitando lo más posible alterarlos o de disolverlos. Los métodos empleados pueden clasificarse en tres grupos:

- Dispersión en agua con agitación mecánica eventual
- Dispersión acústica y ultrasónica;
- Dispersión química con dispersantes poco destructivos de las materias orgánicas.

### *Dispersión mecánica en agua*

Estas técnicas de dispersión deben ser consideradas como mejor adaptadas que las basadas en el uso de ultrasonidos, cuya acción puede ser demasiado destructiva frente a los compuestos del suelo (Bruckert, 1994). Los ultrasonidos rompen los minerales frágiles y alteran algunas materias orgánicas, pero sobre todo causan el estallido de las células microbianas cuyo contenido protoplásmico viene a fijarse sobre las arcillas (McGill *et al.*, 1975). La técnica propuesta consiste en un tratamiento mecánico de baja intensidad por agitación controlada en presencia de esferas de ágata de 10 mm de diámetro:

Se mezclan 35 g de suelo seco tamizado a 2 mm con 200 mL de agua en agitación rotativa (40 a 50 vueltas por minuto) durante un tiempo que puede ir de 8 a 15 horas. Los porcentajes de fracción fina (0-50 micrones) obtenidos por estos autores pasan de un 57% del peso de suelo, con la agitación sin bola, al 90% del peso de suelo con la fragmentación mecánica con esferas de ágata. Más allá de un determinado nivel de acción mecánico (más de 3 esferas para 15 horas de agitación o más de 8 horas de agitación con 5 esferas), los tratamientos pueden solubilizar una parte del carbono.

### *Dispersión por vibraciones sónicas y ultrasónicas*

Según Bruckert (1994), la acción de los ultrasonidos es demasiado destructiva. Sin embargo, las técnicas de dispersión sónica e ultrasónica a menudo se citan para el fraccionamiento físico de las materias orgánicas. El efecto de los ultrasonidos sobre los desechos orgánicos gruesos separados en el agua después de la acción de las esferas de vidrio, fue estudiado por muchos autores mencionados en la bibliografía de este capítulo (US de energía y frecuencia variable, 100 a 500 J mL<sup>-1</sup> y 10 a 50 KHz).

Con el tiempo generalmente preconizado de 10 minutos de ultrasonido, más del 60% del carbono de la fracción inicial se encuentra en las clases de granulometría inferiores, esto para cada una de las clases de granulometría. Los autores ponen de manifiesto que una parte de este fraccionamiento puede asignarse a una separación de fracciones arcillosas asociadas a los desechos vegetales. La aplicación de los ultrasonidos en las condiciones necesarias para la dispersión de las arcillas produce una división importante de los desechos vegetales gruesas.

Esta comprobación importante, condujo los autores a proponer un protocolo de fraccionamiento de granulometría aplicando los ultrasonidos sólo sobre la suspensión de las partículas inferiores a 50 micrones (Figura AA3). En lo que concierne a los micro-agregados, ningún de los tratamientos ultrasónicos permite un fraccionamiento comparable al tratamiento por agitación en presencia de agua oxigenada. Ello se desprende del hecho que el principal vínculo entre estas partículas es esencialmente orgánico u órgano-mineral.

### *Dispersión química de los constituyentes orgánicos*

Las técnicas de dispersión química se usan menos para fraccionar la materia orgánica que en el análisis de granulometría clásico. Si se desea estudiar la distribución de granulometría de las materias orgánicas, se desaconseja los dispersantes con poder destructivo de las enlaces órgano-mineral; en su lugar pueden usarse agentes dispersantes menos agresivos como las sales neutras.

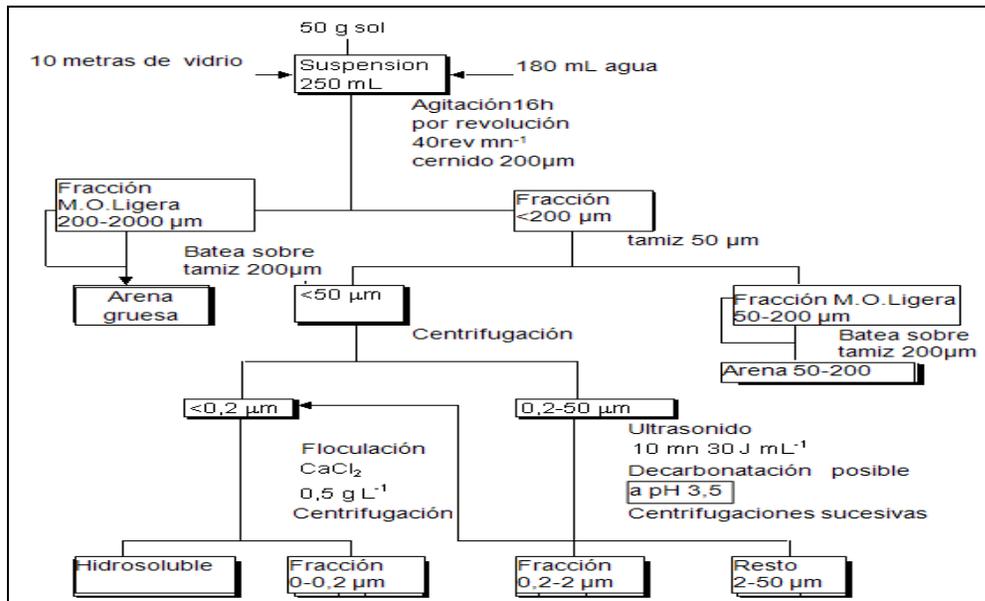


Figura AA3. Fraccionamiento por granulometría y centrifugación después de dispersión del suelo total por agitación con bolas de vidrio y dispersión de la fracción  $< 50 \mu\text{m}$  a los ultrasonidos (Balesdent *et al.*, 1991).

La técnica de las resinas sódicas se definió también como lo más eficaz entre cinco técnicas de dispersión aplicadas a oxisoles de estructura muy estables ricos en gibbsita (Bartoli *et al.*, 1991). Los autores estudiaron también la influencia de las relaciones suelo/resina sódica sobre la dispersión, el pH de las suspensiones y la solubilidad del carbono (Figura AA4).

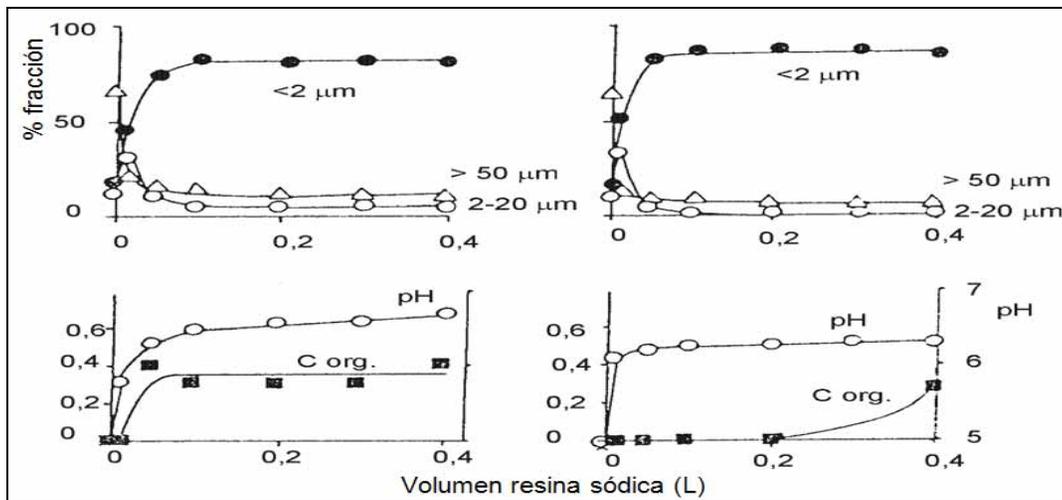


Figura AA4. Influencia del volumen de las bolsitas de resina sódica sobre la dispersión de los agregados, el pH de la suspensión de suelo (2,5 g por 200 mL de agua destilada) y la solubilidad del carbono orgánico sobre un horizonte de superficie (a la izquierda) y profundidad (a la derecha) de un oxisol de Nigeria (Bartoli *et al.*, 1991).

## Método

Se añaden volúmenes de 0, 10, 50, 100, 200, 300, 400 mL de resina sódica Amberlite Ir-120 (500 micrones), contenidos en bolsitas de rejilla de nylon a malla de 50 micrones a muestras de 2,5 g de suelo en 200 mL de agua destilada. Las suspensiones se agitan 16 h con agitador rotativo a 40 rotaciones por minutos.

La subida de pH de las suspensiones se sitúa entre una y dos unidades. En el horizonte de profundidad, la extracción de carbono orgánico sólo comienza a ser perceptible para volúmenes de resina superiores a 200 mL; por el contrario, en el horizonte cultivado de superficie, los autores constatan una extracción de carbono orgánico para todas las contribuciones de resina, independientemente del volumen añadido; este horizonte contiene probablemente más materia orgánica de reciente formación casi no humificada e hidrosoluble.

## **CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS**

Ningún método permite separar de manera perfecta cada uno de los constituyentes de los suelos: raíces, fragmentos vegetales, fragmentos animales, microorganismos, complejos organo-minerales. Los métodos mencionados incluyen tres etapas: 1: extracción de raíces, 2: extracción de materiales orgánicos libres no humificados y 3: fraccionamiento de las materias orgánicas por clase de granulometría.

Los distintos métodos propuestos para la separación de las raíces y suelos, funcionan sobre principios bastante similares de elutriación y tamizado sub-acuático. Las técnicas densimétricas son relativamente simples de aplicación. Su acoplamiento con un fraccionamiento de granulometría de las partículas gruesas y la utilización de métodos de dispersión poco agresivos de los agregados estructurales aportan informaciones más completas y confiables que la sola densimetría.

## **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

- Abo, F. 1984. Influence du bore et du manganèse sur la nutrition, le développement et la production de blé sur sols de régions tempérée et aride. Thèse d'état, université Paris VII, 390 p.
- Anderson, J. M. y J. S. Ingram. 1989. *Tropical soil biology and fertility (TSBF) : a handbook of methods*. C.A.B. international, 171 p.
- Ahmad, M. y J. M. Oades. 1984. Distribution of organic matter and adenosine triphosphate after fractionation of soils by physical procedures. *Soil Biol. Biochem.*, 16, 465-470.
- Balesdent, J., J. P. Pétraud y C. Feller. 1991. Effets des ultrasons sur la distribution granulométrique des matières organiques des sols. *Science du sol*, 29, 95-106.
- Bartoli, F., G. Burtin y A. J. Herbillon. 1991. Disaggregation and clay dispersion of oxisols : Na resin, a recommended methodology. *Geoderma*, 49, 301-317.
- Bruckert, S. 1994. Analyse des complexes organo-minéraux des sols. pp. 275-295. En Bonneau et Souchier (ed.) *Pédologie 2. Constituants et propriétés du sol*, 2nd ed., Masson, Paris,.
- Christensen, B. T. 1992. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. *Advances in soil science* N°20, Springer-Verlag New York Inc, 1-90.
- Elliott, E. T. y C. A. Cambardella. 1991. Physical separation of soil organic matter. *Agriculture, ecosystems and environment*. Elsevier Science Publishers, 34, 407-419.
- Feller, C. 1994. *La matière organique dans les sols tropicaux à argile 1:1. Recherche de compartiments organiques fonctionnels. Une approche granulométrique*. IRD-Orstom, Paris, thèses et documents microfichés.

- Mc Gill, W. B., J. A. Shields y E. A. Paul. 1975. Relation between carbon and nitrogen turnover in soil organic fraction of microbial origin. *Soil Biol. Biochem.*, 16, 465-470.
- Pansu, M., J. Gautheyrou, y J. Loyer. 1998. L'analyse du sol : Échantillonnage, instrumentation et controle. Ed. Masson, Paris.

## **BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA SOBRE FRACCIONAMIENTO FÍSICO DE LOS CONSTITUYENTES ORGÁNICOS**

- Anderson, D. W. y E. A. Paul. 1984. Organo-mineral complexes and their study by radiocarbon dating. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 298-301.
- Anderson, D. W., S. Saggar, J. R. Bettany y J. W. Stewart. 1981. Particle size fractions and their use in studies of soil organic matter: I. The nature and distribution of forms of carbon, nitrogen and sulfur. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45, 767-772.
- Andreux, F., S. Bruckert, A. Correa y B. Souchier. 1980. Sur une méthode de fractionnement physique et chimique des agrégats des sols : origines possibles de la matière organique des fractions obtenues. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 291, 381-384.
- Arrouays, D. 1994. Intérêt du fractionnement densimétrique des matières organiques en vue de la construction d'un modèle bi-compartimental d'évolution des stocks de carbone du sol. Exemple après défrichement et monoculture de maïs grain des sols de "touyas". *C.R.Acad.Sci. Paris*, 318, II, 787-793.
- Beare, M. H., P. F. Hendrix y D. C. Coleman. 1994. Water-stable aggregates and organic matter fractions in conventional-and no-tillage soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58 : 777-786.
- Besnard, E., C. Chenu, J. Balesdent, P. Puget y D. Arrouays. 1996. Fate of particulate organic matter in soil aggregates during cultivation. *European Journal of Soil Science*, 47, 495-503.
- Bonzon, B. y D. Picard. 1969. Matériel et méthodes pour l'étude de la croissance et du développement en pleine terre des systèmes racinaires. *Cah. ORSTOM sér. Biol.*, 9, 3-9.
- Bruckert, S., F. Andreux, A. Correa, K. J. M. Ambouta y B. Souchier. 1978. *Proc. 11<sup>e</sup> Congrès A.I.S.S.*, Edmonton, Canada.
- Cambardella, C. A. y E. T. Elliott. 1993. Carbon and nitrogen distribution in aggregates from cultivated and native grassland soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 57, 1071-1076.
- Catroux, G. y M. Schnitzer. 1987. Chemical, Spectroscopic and Biological Characteristics of the organic matter in particle size fractions separated from an aquoll. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51, 1200-1207.
- Dabin, B. 1976. Méthode d'extraction et de fractionnement des matières humiques du sol. Application à quelques études pédologiques et agronomiques dans les sols tropicaux. *Cah. Orstom, Sér. Pédol.*, XIV, 287-297.
- Edwards, A. P. y J. M. Bremner. 1967. Dispersion of soil particles by sonic vibration. *J. of Soil Sci.*, 18, 47-63.
- Elliott, E. T., C. A. Palm, D. E. Reuss y C. A. Monz. 1991. Organic matter contained in soil aggregates from a tropical chronosequence : correction for sand and light fraction. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34 : 443-451.
- Feller, C. 1979. Une méthode de fractionnement granulométrique de la matière organique du sol. *Cah. ORSTOM sér. Pédol.*, XVII, 339-346.
- Feller, C., G. Burtin, B. Gérard y J. Balesdent. 1991. Utilisation des résines sodiques et des ultrasons dans le fractionnement granulométrique de la matière organique des sols. Intérêt et limites. *Science du sol*, 29, 77-93.

- Ford, G. W., D. J. Greenland y J. M. Oades. 1969. Separation of the light fraction from soils by ultrasonic dispersion in halogenated hydrocarbons containing a surfactant. *J. of Soil Sci.*, 20, 291-296.
- Gavinelli, E., C. Feller, M. C. Larré-Larrouy, B. Bacyé, N. Djegui y J. Nzila. 1995. A routine method to study soil organic matter by particle-size fractionation, examples for tropical soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 26, 1749-1760.
- Genrich, D. A. y J. M. Bremner. 1972. A reevaluation of the ultrasonic vibration method of dispersing soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 36, 944-947.
- Golchin, A., J. M. Oades, J. O. Skjemstad y P. Clarke. 1994. Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy. *Australian Journal of Soil Research*, 32, 285-309.
- Greenland, D. J. y G. W. Ford. 1964. Separation of partially humified organic materials from soils by ultrasonic dispersion. *Trans. 8th Int. Congr. Soil Sci.*, 3, 137-148.
- Gregorich, E. G., R. G. Kachanoski y R. P. Voroney. 1988. Ultrasonic dispersion of aggregates : distribution of organic matter in size fractions. *Can. J. Soil. Sci.*, 68, 395-403.
- Hassink, J. y J. W. Dalenberg. 1996. Decomposition and transfer of plant residue  $^{14}\text{C}$  between size and density fractions in soil. *Plant and Soil*, 179, 159-169.
- Hénin, S. y L. Turc. 1949. Essai de fractionnement des matières organiques du sol. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 35, 41-43.
- Jeanson Luusinang C. 1960. Fractionnement par densité de la matière organique des sols. *Ann. Agron.*, 11, 481-496.
- Kilmer, V. J. y L. T. Alexander. 1949. Methods of making mechanical analyses of soils. *Soil Sci.*, 68, 15-24.
- Ladd, J. N., J. W. Parsons y M. Amato. 1977. Studies of nitrogen immobilization and mineralization in calcareous soils-I, Distribution of immobilized nitrogen amongst soil fractions of different particle size and density. *Soil Biol. Biochem.*, 9, 309-318.
- Lein, Z. J. 1940. Les formes de liaison de l'humus avec la partie minérale des sols. *Pochvovedeniye*.
- Meijboom, F. W., J. Hassink y M. van Noordwijk. 1995. Density fractionation of soil macroorganic matter using silica suspensions. *Soil Biol. Biochem.*, 27, 1109-1111.
- Monnier, G., L. Turc y C. Jeanson-Luusinang. 1962. Une méthode de fractionnement densimétrique par centrifugation des matières organiques du sol. *Ann. Agron*, 13, 55-63.
- Oudinot, S. 1985. Fractionnement physique de la matière organique. Distribution du carbone natif et marqué entre les fractions granulométriques de deux sols méditerranéens incubés avec du matériel végétal marqué au  $^{14}\text{C}$ . DEA, ENSAIA-INP de Lorraine, France, 30 p.
- Pansu, M. y H. Sidi. 1987. Cinétique d'humification et de minéralisation des mélanges sols-résidus végétaux. *Science du sol*, 25, 247-265.
- Pearson, R. W. y E. Truog. 1937. Procedure for the mineralogical subdivision of soil separates by means of heavy liquid specific gravity separations. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 2, 109-114.
- Puget, P., E. Besnard y C. Chenu. 1996. Une méthode de fractionnement des matières organiques particulières des sols en fonction de leur localisation dans les agrégats. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, 322, 965-972.
- Puget, P., C. Chenu y J. Balesdent. 1995. Total and young organic matter distributions in aggregates of silty cultivated soils. *European Journal of Soil Science*, 46, 449-459.
- Roscoe, R., P. Buurman y E. J. Velthorst. 2000. Disruption of soil aggregates by varied amounts of ultrasonic energy in fractionation of organic matter of a clay latosol: carbon, nitrogen and  $^{13}\text{C}$  distribution in particle-size fractions. *European Journal of Soil Science*, 51, 445-454.

- Rouiller, J., G. Burtin y B. Souchier. 1972. La dispersion des sols dans l'analyse granulométrique. Méthode utilisant les résines échangeuses d'ions. *Bull. ENSAIA Nancy, France*, XIV, 193-205.
- Sallih, Z. y M. Pansu. 1993. Modelling of soil carbon forms after organic amendment under controlled conditions. *Soil Biol. Biochem.*, 25, 1755-1762.
- Shaymukhametov, M. S., N. A. Titova, L. S. Travnikova y Y. M. Labenets. 1984. Use of physical fractionation methods to characterize soil organic matter. Translated from : *Pochvovedeniye*, 8, 131-141.
- Sidi, H. 1987. *Effet de l'apport de matière organique et de gypse sur la stabilité structurale de sols de région méditerranéenne*. Thèse Docteur ingénieur, INA Paris Grignon.
- Six, J., P. A. Schultz, J. D. Jastrow y R. Merckx. 1999. Recycling of sodium polytungstate used in soil organic matter studies. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1193-1196.
- Smucker, A. J. M., S. McBurney y A. K. Srivastava. 1982. Separation of roots from compacted soil profiles by the hydropneumatic elutriation system. *Agronomy Journal*, 74, 500-503.
- Soil Survey Staff. 1960. *Soil classification - A comprehensive system*, 7th Approximation. USDA, SCS, 265 p.
- Tiessen, H. y J. W. B. Stewart. 1983. Particle-size fractions and their use in studies of soil organic matter : II. Cultivation effects on organic matter composition in soil fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 47, 509-514.
- Turchenek, L. W. y J. M. Oades. 1979. Fractionation of organo-mineral complexes by sedimentation and density techniques. *Geoderma*, 21, 311-343.
- Watson, J. R. 1971. Ultrasonic vibration as a method of soil dispersion, *Soils and Fertilizers*. 34, 127-134.

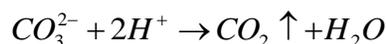
## MÉTODOS QUÍMICOS

Los métodos químicos se basan casi exclusivamente en la aplicación de procedimientos químicos con el uso de extractantes y reactivos de naturaleza química, y para la evaluación de la fertilidad se utilizan una gran variedad de métodos analíticos por lo general estandarizados. En el presente apartado se presenta una compilación amplia de estos procedimientos, y para su aplicación se requiere del juicio y criterio de usuario.

### Determinación de Carbonatos

#### Principio

El principio del método, se basa en la reacción de descomposición de los carbonatos no solubles por medio de un ácido fuerte, (HCl generalmente). Se disuelve un peso dado de suelo en una cantidad conocida de ácido, y luego se titula de ácido que queda sin reaccionar después de la descomposición, mediante una solución de base fuerte (NaOH) estandarizada.



### Equipos y materiales

- Balanza analítica con sensibilidad 0,001 g.
- Plancha de calentamiento con agitador magnético.
- Bureta de 50 mL, fioles de 250 mL y pipetas volumétricas de 50 y 20 mL.
- Soln HCl 0,5 N, soln NaOH 0,5 N, fenolftaleína 0,5 % soln alcohólica.

### Procedimiento

Se pesan 5 gramos de suelo seco al aire en una fiola de 250 mL y se añaden 50 mL de HCl 0,500 N, se coloca sobre plancha con agitación magnética y se deja reposar hasta el día siguiente. Se toma una alícuota de 20 mL de la solución sobrenadante, se añaden 2 ó 3 gotas del indicador y se titula con la solución de NaOH 0,500 N hasta que la solución vire de incolora a rosado pálido. Se nota el volumen de base utilizado en la titulación como  $V_{NaOH}$ . En el Cuadro AA9 se presenta la interpretación de los resultados.

Cuadro AA9. Interpretación de resultados

<b>Carbonato (%)</b>	<b>Observaciones</b>
<1	Sin carbonatos
1-4	Contenido medio
4-5	Contenido alto
> 5	Suelo calcáreo

### Cálculos

$$\%CaCO_3 = \frac{gCaCO_3}{g_{muestra}} \times 100 = \frac{(V_{HCl} \times N_{HCl} - V_{NaOH} \times N_{NaOH}) \times Meq}{g_{muestra}} \times 100$$

Para las condiciones del análisis será:

$$\%CaCO_3 = \frac{(50 \times 0,50 - V_{NaOH} \times N_{NaOH}) meq \times 50 \frac{mg}{meq}}{5000mg} \times 100 = [25 - (V_{NaOH} \times N_{NaOH})]\%$$

donde:  $V_{HCl}$  = Volumen (mL) de ácido clorhídrico,  $N_{HCl}$  = Normalidad del ácido clorhídrico,  
 $V_{NaOH}$  = Volumen (mL) del hidróxido de sodio gastado y  $N_{NaOH}$  = Normalidad del hidróxido de sodio.

## Comentarios

El método es sencillo, tanto en su comprensión teórica, como en su ejecución práctica. Este procedimiento está contemplado en los cursos básicos de análisis químico sin embargo, se deben tomar en cuenta algunos detalles.

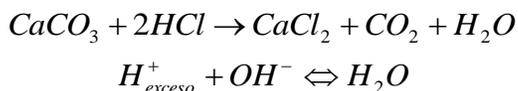
Una solución 0,500 N de HCl es difícil de preparar y lo que se obtiene es una solución de concentración aproximada a la calculada. Por este motivo, esta solución aproximada debe ser valorada frente a un patrón primario como el carbonato de sodio anhidro. Igualmente, una solución 0,500 N de NaOH también es difícil de preparar e igualmente se obtiene una solución de concentración aproximada, la cual debe ser valorada frente a otro patrón primario como el ácido oxálico, aunque se puede utilizar el HCl previamente valorado.

La reacción de la muestra con el ácido debe ser hecha bajo campana de extracción de gases y las fioles deben quedar tapadas durante la noche. La titulación debe hacerse sobre fondo blanco para tener mejor noción del punto final.

Podría mejorarse la precisión del método realizando la titulación de manera potenciométrica. Habrá una mejor detección del punto final y disminuye el error del indicador el cual cambia después del punto de equivalencia de la titulación a 8,7. Igualmente, se evita la interferencia del hierro férrico. La solución debería hervirse suavemente por 5 minutos para desalojar el CO<sub>2</sub> disuelto en la misma.

Si el indicador cambia de color con la primera gota de titulante (NaOH), significa que la cantidad de ácido agregada no fue suficiente y se debe averiguar cuál sería el exceso adecuado a la muestra, o simplemente duplicar la cantidad de ácido (100 mL). Igualmente, podría disminuirse la cantidad de muestra.

Nota: Los cálculos para determinar el porcentaje de carbonatos en la muestra se realizan con base en las reacciones:



y el exceso de ácido se titula con HCl valorado. Utilizando 50 mL HCl 0,500 M se tienen:

$$n_{\text{HCl}}(\text{inicial}) = 50\text{ml} \times 0,5 \frac{\text{mmol}}{\text{ml}} = 25\text{mmolesHCl}$$

Suponer que se usaron 10 mL de NaOH 0,5 M para titular el exceso de ácido que no reaccionó, entonces la cantidad de HCl que no reaccionó será:

$$\frac{1\text{molHCl}}{1\text{molNaOH}} = \frac{X\text{molHCl}}{0,01\text{l} \times 0,5 \frac{\text{mol}}{\text{l}}}$$

$$X\text{molHCl} = 5 \times 10^{-3} \text{molNaOH} \times \frac{1\text{molHCl}}{1\text{molNaOH}} = 5 \times 10^{-3} \text{molHCl}$$

y la cantidad que reaccionó será:

$$n_{HCl} = (25 - 5) \text{mmoles} = 20 \text{mmoles}$$

De la reacción con el carbonato se tiene que:

$$\frac{1 \text{molCaCO}_3}{2 \text{molHCl}} = \frac{X \text{molCaCO}_3}{0,02 \text{molHCl}}$$

$$X \text{molCaCO}_3 = 0,02 \text{molHCl} \times \frac{1 \text{molCaCO}_3}{2 \text{molHCl}} = 0,01 \text{molCaCO}_3$$

y los gramos de carbonato serán

$$gCaCO_3 = n \times MM = 0,01 \text{molCaCO}_3 \times 100 \frac{g}{mol} = 1gCaCO_3$$

y el porcentaje de carbonato en la muestra de 5 gramos será de:

$$\%CaCO_3 = \frac{gCaCO_3}{g_{muestra}} \times 100 = \frac{1g}{5g} \times 100 = 20\%$$

Se pueden realizar los cálculos en gramos directamente a partir del volumen y la normalidad de HCl utilizado. Los gramos iniciales de HCl serán:

$$\begin{aligned} gHCl &= V_{NaOH} (mL) \times N_{NaOH} \left( \frac{meq}{mL} \right) \times \left( \frac{mgHCl}{meq} \right) \times \frac{1g}{1000mg} = \\ &= 50mL \times 0,5 \frac{meq}{mL} \times \frac{36,5mgHCl}{meq} \times 10^{-3} \frac{g}{mg} = 0,913gHCl \end{aligned}$$

Los gramos de HCl sobrantes serán:

$$gHCl = 10mL \times 0,5 \frac{meq}{mL} \times \frac{36,5mgHCl}{meq} \times 10^{-3} \frac{g}{mg} = 0,183gHCl$$

Los gramos de HCl que reaccionaron serán:

$$gHCl_{reaccionanes} = (0,193 - 0,183)gHCl = 0,730gHCl$$

Según la estequiometría de la reacción, los gramos de carbonato de calcio estarán dados por la relación:

$$\frac{100\text{gCaCO}_3}{2 \times 36,5\text{gHCl}} = \frac{X\text{gCaCO}_3}{0,730\text{gHCl}}$$

$$X\text{gCaCO}_3 = 0,73\text{gHCl} \times \frac{100\text{gCaCO}_3}{2 \times 36,5\text{gHCl}} = 1\text{gCaCO}_3$$

y el % de carbonato en la muestra será del 20%.

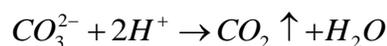
Según la expresión dada anteriormente en el modo de cálculo se obtiene que:

$$\% \text{CaCO}_3 = [25 - (V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}})]\% = [25 - (10 \times 0,5)]\% = 20\%$$

### **Determinación de carbonatos totales por calcimetría**

#### Principio

El análisis se basa, al igual que el método volumétrico, en que el ión carbonato es descompuesto por el HCl en solución con desprendimiento de dióxido de carbono, el cual se puede recoger y medir controlando la temperatura y la presión. Este método está descrito en la norma NF ISO 10693 (1995).



En el caso del carbonato de calcio, la reacción es rápida, mientras que con el carbonato de magnesio la reacción es más lenta.



#### Equipos y materiales

- Balanza analítica 0,001 g
- Calcímetro tipo Bernard con llave de dos vías y erlermeyer con dedo lateral de 1500 mL
- Barómetro
- Carbonato de calcio PA secado al desecador, HCl 37 % (d = 1,19). Solución 1:1
- Solución saturada de NaCl con colorante, para la recolección del CO<sub>2</sub>.
- Agua destilada

#### Procedimiento

Se pesan máximo 10 g de suelo de manera de obtener entre 60 y 80 mL de CO<sub>2</sub> se coloca la muestra en el erlermeyer y se agregan 10 mL de la solución de HCl 1:1 en el dedo lateral del erlermeyer. Tapar el erlermeyer con la llave A abierta (Figura AA5). Por medio del recipiente C se nivela con la salmuera a cero en el tubo medidor de gas y luego se cierra la llave A. Con la ayuda de

una pinza a tres dedos se inclina el erlenmeyer, a fin de que el HCl contenido en el dedo lateral se vierta sobre la muestra de suelo y se agita la mezcla.

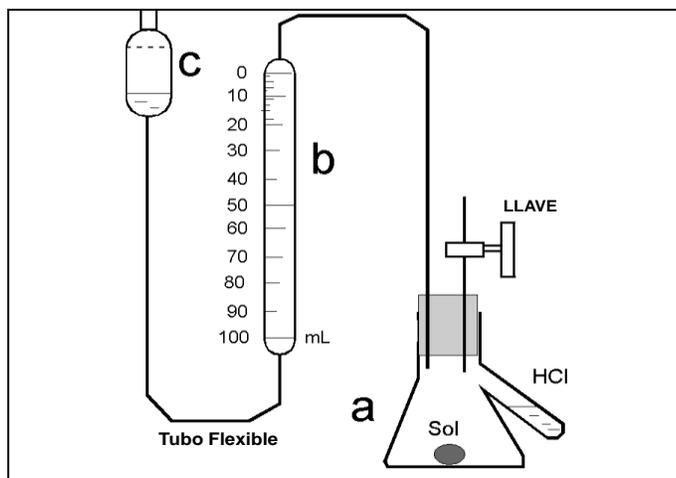


Figura AA5. Calcímetro tipo Bernard con tubo recolector de gas de 100 mL.

Se baja el recipiente C a medida que el nivel de salmuera en el tubo medidor baja, una vez cesa la producción de  $\text{CO}_2$ , se nivela el recipiente C con el nivel en el tubo medidor de gas y se efectúa la lectura de los mL de  $\text{CO}_2$ . Tomar nota de la temperatura y la presión atmosférica. Para la calibración del calcímetro, se realiza la operación antes mencionada con tres muestras entre 0,001 y 0,003 g de  $\text{CaCO}_3$  puro y secado al desecador. En el Cuadro AA10 se muestran las densidades ( $\text{g L}^{-1}$ ) del  $\text{CO}_2$  a diferentes presiones y temperaturas

### Cálculos

Los resultados se expresan al igual que en el método anterior en porcentaje de carbonato de calcio.

$$\% \text{CaCO}_3 = \frac{\text{gCaCO}_3}{\text{g}_{\text{muestra}}} \times 100 = \frac{\text{gCO}_2 \times \frac{100,09 \text{gCaCO}_3}{44 \text{gCO}_2}}{\text{g}_{\text{muestra}}} \times 100 = \frac{V_{\text{CO}_2} (\text{mL}) \times d_{\text{CO}_2} \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times 2,275 \frac{\text{gCaCO}_3}{\text{gCO}_2}}{\text{g}_{\text{muestra}}} \times 100$$

Cuadro AA10. Densidad ( $g L^{-1}$ ) del  $CO_2$  a diferentes presiones y temperaturas

Presión (mmHg)	20 °C	21 °C	22 °C	23 °C	24 °C
740	1,7423	1,7338	1,7251	1,7164	1,7075
750	1,7665	1,7530	1,7443	1,7355	1,7265
760	1,7906	1,7818	1,7730	1,7641	1,7551
770	1,8147	1,8059	1,7970	1,7880	1,7789

## pH del suelo

### Consideraciones preliminares

El término *pH* fue acuñado por primera vez en 1909 por Sörence, bajo el nombre de *exponente de hidrógeno*, a fin de facilitar el manejo de las cifras de concentraciones de los iones  $H^+$  y  $OH^-$  los cuales indican el grado de acidez o alcalinidad respectivamente, en una solución acuosa. El prefijo “*p*” representa al término *-log* a menudo llamado “potencial”, y la letra *H* representa a la concentraciones de iones hidrógeno libres. De esta manera:

$$pH = -\log[H^+]$$

Análogamente se define:

$$pOH = -\log[OH^-]$$

La ley de acción de masas establece que el producto de las concentraciones de iones  $H^+$  y  $OH^-$  es constante:

$$[H^+] \times [OH^-] = 10^{-14} = K_w$$

De manera que:

$$pH + pOH = 14$$

En efecto, los valores de las concentraciones de los iones  $H^+$  y  $OH^-$  son muy bajos y de manejo incómodo. Por ejemplo, en una solución de *pH* 8, la concentración molar de iones hidrógeno es de  $10^{-8}$ , es decir, 0,00000001 M y el *pOH* es 6, por lo que la concentración molar de iones oxidrilos es de  $10^{-6}$ , es decir, 0,000001 M.

Para evitar confusiones y errores es preferible usar la notación científica (potencias negativas de 10) y utilizar el término *pH*. De esta manera, a medida que el valor del *pH* de la solución se incrementa, la concentración de iones hidrógeno disminuye, la acidez de la misma disminuye y el carácter alcalino de la solución se incrementa.

Los valores de  $pH$  se determinan comúnmente por el método potenciométrico (método electroquímico), el cual hace uso de un  $pH$ metro con electrodo de vidrio incorporado como instrumento de medición. Al colocar el bulbo del electrodo de vidrio en la solución, se genera una diferencia de potencial cuya magnitud es proporcional a la concentración de iones hidrógeno y la cual es convertida electrónicamente en unidades de  $pH$  que se muestran en un display digital.

El  $pH$ metro debe ser calibrado antes de ser utilizado por medio de soluciones buffer, por lo general de  $pH$  4, 7 y 10. Dependiendo del rango de mediciones esperado, la calibración se hace con dos puntos a  $pH$  4 y 7 para rangos ácidos ó 7 y 10 para rangos alcalinos.

### Factores que determinan el valor del $pH$ en un suelo

En el caso de una suspensión de un suelo en agua, la situación es mucho más compleja que en el caso de soluciones acuosas de ácidos y bases. En efecto, el suelo está formado por partículas de diversos tamaños y la distribución de los iones no es uniforme en el seno de la solución, y la composición de la esfera iónica alrededor de dichas partículas es un factor determinante en los valores de los  $pH$  medidos en este tipo de suspensión.

Tomando el ejemplo de un suelo disperso en agua cuyas partículas están negativamente cargadas, estas cargas negativas superficiales provocan adsorción física de cationes y la formación de la doble capa difusa alrededor de cada partícula. El espesor de esta doble capa depende de los tipos de iones disueltos en el medio de dispersión, de la concentración de la solución, del grado de hidratación y la valencia de los cationes. A una mayor concentración de la solución, más delgada es la capa doble difusa y más cercanos estarán los iones de la partícula.

De esta manera, la concentración de los iones hidrógeno es menor en el conjunto de la solución que cerca de las partículas, debido al gradiente de concentración de iones hidrógeno que aumenta en la doble capa difusa al acercarse de la superficie de la partícula. De esta manera, los valores de  $pH$  son menores cuando son medidos directamente en la suspensión bajo agitación vigorosa, en comparación con los medidos en el sobrenadante separado. Esta diferencia se le conoce como *el efecto suspensión*.

La variación del contenido de sales en el suelo afecta la actividad iónica, lo que puede causar que los valores de  $pH$  varíen. Además, las hidrólisis y el desplazamiento de iones hidrógeno de los sitios de intercambio provocan un descenso de los valores de  $pH$ , especialmente en soluciones diluidas.

Se puede también realizar la medición de  $pH$  de manera normalizada y estable en una solución de un electrolito fuerte como soluciones de  $CaCl_2$  0,01 y 0,002 M y  $KCl$  0,1 y 1 M. Sin embargo, la presencia del electrolito fuerte como el  $KCl$  puede causar intercambio iónico, especialmente con los iones hidrógenos adsorbidos sobre las arcillas, lo que hace bajar los valores de  $pH$  en relación a la suspensión en agua. El  $pH$  medido en estas soluciones es más constante y menos dependiente de la relación suelo-solución, como lo es el  $pH$  medido en suspensión acuosa. La solución de  $KCl$  es más efectiva en desplazar iones hidrógeno de sus posiciones de intercambio por lo que los valores del  $pH$  son aun más bajos.

Las soluciones diluidas de  $CaCl_2$ , por lo contrario, tienen la ventaja de poseer una fuerza iónica similar a la solución de suelo, de manera que la variación natural de la concentración salina en el suelo tendrá un efecto menor con un intercambio catiónico inhibido.

Por último, los valores de  $pH$  pueden variar según sea la humedad del suelo. Para suelos secados al aire pueden presentar valores más bajos, especialmente aquellos con contenido de piritita, la cual se oxida con la producción de ácido sulfúrico.

Como conclusión, hay que recordar que la correcta interpretación de las mediciones de pH de un suelo puede ser bastante complicada. El mismo depende de la concentración de sales y del CO<sub>2</sub> en la solución del suelo, las cuales están cambiando constantemente. La variabilidad espacial sobre el terreno puede causar diferencias significativas aún cuando las muestras hayan sido tomadas el mismo día. Para ganar tiempo y seguridad en la interpretación, lo más recomendable es practicar sistemáticamente la medida en agua y luego en una solución electrolita elegida a partir de la misma muestra de suelo, como se explica a continuación en la parte práctica.

## **Método potenciométrico**

### Aparatos e instrumentos

- pHmetro equipado con sonda de temperatura y electrodo de vidrio (sensor de iones H<sup>+</sup>)
- Balanza de precisión (1mg)
- Plancha con agitación magnética
- Vasos de precipitado de 50 o 100 mL
- Balón aforado de 1 litro.

### Reactivos y soluciones

- Agua recién destilada y hervida.
- Solución de cloruro de potasio (KCl) N: Pesar 74,555 g de KCl P.A., disolver, trasvasar a un balón aforado de 1 litro y aforar con agua destilada.
- Soluciones tampones frescas de pH 4, 7 y 10.

## **Procedimiento para medir el pH del suelo en agua**

Partir de un suelo tamizado a 2 mm perfectamente homogeneizado. Pesar en un vaso de precipitado de 100 mL 20 g de suelo. Agregar 50 mL de agua destilada, (es preferible trabajar, si es posible, con agua desmineralizada, sino se debe hacer hervir el agua destilada para eliminar el CO<sub>2</sub> disuelto). Agitar la mezcla durante 15 min. Dejar en reposo e introducir el electrodo en el sobrenadante.

## **Procedimiento pH en KCl**

Proceder de la misma manera que para la determinación del pH en agua, pero en lugar de poner agua, agregar 50 mL de la solución de KCl N.

## **Calibración del pHmetro**

Conectar el pHmetro mínimo media hora antes de utilizarlo para su estabilización al momento de las determinaciones. Una vez que el instrumento esté estabilizado, lavar cuidadosamente el electrodo con agua destilada. Secar perfectamente con papel filtro fino o con papel absorbente.

Activar el modo calibración del instrumento y seguir las instrucciones que aparecen en el display. Introducir el electrodo y la sonda de temperatura en la solución de pH 4 y ajustar la lectura si

es necesario. Sacar el electrodo de la solución, lavarlo con abundante agua destilada, secar e introducirlo después en la solución de pH 7.

Lavar el electrodo nuevamente con abundante agua destilada y secar. En este momento el instrumento está listo para las mediciones de las muestras. Esperar de 1 a 2 minutos para la estabilización del instrumento entre cada muestra. Se debe verificar la calibración del pHmetro cada cien muestras o cada día de mediciones.

## Controles

Para cada serie: Una muestra preparada por duplicado, una muestra testigo de valor conocido. Cada 10 muestras, medir el buffer de pH 7 a fin de verificar la calibración.

## Notas:

- Para lavar a fondo el electrodo se utiliza una solución de ácido fluorhídrico al 1% en agua. No se debe dejar demasiado tiempo el electrodo en contacto con esta solución (este ácido ataca el vidrio y 4 ó 5 minutos son suficientes). Esta operación se efectúa generalmente 2 veces al año. Mantener siempre limpio los electrodos y dejarlos permanentemente en agua destilada limpia. Algunos pHmetros están equipados de una corrección automática de temperatura, en el caso contrario, no olvidar hacer la corrección en relación con la temperatura de las soluciones que vamos a medir.
- Existen por fin problemas prácticos como el de saber si se debe o no agitar la solución al momento de la medida, o si es preferible de poner el electrodo en el fondo del vaso o en la parte superior de la solución sobrenadante ninguno de los dos parece muy importante. Prácticamente cada laboratorio tiene su propia manera de operar, lo primordial es trabajar siempre en las mismas condiciones con el fin de obtener datos comparables y reproducibles.
- Para la medida del pH en KCl, lo expuesto anteriormente para el pH en agua no tiene importancia, las lecturas no cambian según la manera de operar. Se puede también proceder, para la medida del pH en KCl de la siguiente manera. Sobre la muestra que sirvió para la determinación del pH en agua, después de la medición del "pH agua", agregar por medio de una pipeta, la cantidad de una solución saturada de KCl correspondiente al volumen inicial de agua para llegar a una concentración cercana de la normalidad. Agitar con una varilla de vidrio, dejar en reposo 15 min, y efectuar la lectura. Procediendo así, evitamos pesar en doble las muestras y también disminuye el material utilizado.

## Método colorimétrico

Este método hace uso de indicadores ácido base para la medición del pH. El indicador es un ácido o una base débil cuyas formas disociadas y no disociadas poseen colores distintos. En el equilibrio, la relación de las concentraciones de estas dos formas determina el color de la solución. Si el indicador es un ácido débil, entonces el pH estará dado por:

$$pH = pKa + \log\left(\frac{[In^-]}{[HIn]}\right)$$

Donde  $[In^-]$  y  $[HIn]$  son las concentraciones de las formas disociadas y no disociadas del indicador. Si ambas concentraciones son iguales, entonces el valor del pH coincide con el valor de  $pK_a$  y un pequeño cambio en cualquiera de las concentraciones produce un cambio drástico de color. Este mismo cambio es utilizado para la determinación del pH. El rango de pH donde ocurre el cambio de color, o rango de virage, varía con el indicador y se encuentra dentro del intervalo:

$$pH = pK_a \pm 1$$

Por lo general se usan mezclas de indicadores, algunas de las cuales están disponibles comercialmente (Indicador universal, indicador dúplex), y pueden abarcar un rango de pH 3 a 11. El pH es indicado en una escala de color del rojo al azul. Los rojos indican reacción ácida, amarillo a verde claro indica reacción levemente ácida o levemente alcalina, y los azules representan reacción alcalina.

Este método tiene la ventaja de ser de fácil aplicación en mediciones de campo sin embargo, requiere de soluciones muy claras y relaciones suelo-solución pequeñas, lo cual no se asemeja a las condiciones naturales del suelo.

### **Preparación del indicador mixto para pH 2 a 10 y Calibración colorimétrica del indicador mixto**

Disolver en 100 mL de etanol absoluto:

- 80 mg azul de bromotimol
- 40 mg de rojo de metilo
- 60 mg de naranja de metilo
- 20 mg de fenolftaleína
- 100 mg de azul de timol

En el Cuadro AA11 se señalan los colores del indicador mixto en función del pH

Cuadro AA11. Color del indicador mixto en función del pH

<b>Color</b>	<b>pH</b>
Carmesí – rojo	2
Rojo	3
Rojo – naranja	4
Naranja	5
Amarillo	6
Amarillo verdoso	7
Verde	8
Azul verdoso	9
Azul	10

### **Procedimiento de medición del pH en laboratorio**

Pesar de 10 a 15 g de suelo en un tubo de centrífuga de 100 mL, se agregan 30 mL de agua destilada y se agita por 5 minutos. Centrifugar la solución a mínimo 2500 rpm por 15 minutos y filtrar

el sobrenadante. Transferir 10 mL del filtrado claro a un tubo de ensayo y agregar 5 a 10 gotas del indicador mixto. Para obtener el valor del pH se compara el tubo con la escala colorimétrica. Al utilizar este método es conveniente de preparar una serie de soluciones buffer estándares y verificar el color con las mismas.

### **Procedimiento de campo**

Colocar una pequeña cantidad del suelo en un vidrio de reloj y se agregan unos mililitros de agua destilada removiendo con una varilla de vidrio durante 5 minutos. Después de decantar, separar la solución en un tubo de ensayo y agregar 1 a 3 gotas de indicador mixto. Comparar el color con la escala colorimétrica para la determinación del pH.

### **BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA SOBRE pH.**

- Lewis, D. C., A. L. Clarke y W. B. Hall. 1987. Accumulation of plant nutrient and changes in soil properties of Sandy soil under fertilized pasture in south – Eastern south Australia. II. Total sulfur and nitrogen, organic carbon and pH. *Aust. J of Soil Res.* 25. 203 - 210
- McAndrew, D. W. y S. S. Malhi. 1992. Long – term N fertilization of a solonetzic soil; Effects on chemical and biological properties. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 24, Nr. 7, 619 - 623
- Gillman, G. P. 1991. The chemical properties of acid soils with emphasis on soils of the humid tropics. En R. J. Wright et al. (Eds.). *Plant and soil interactions at low pH.* 3-14. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Yang, J., R. W. Blanchar y R. D. Hammer. 1994. Calibration of glass microelectrodes for in situ pH measurements. *Soil Sci. Soc. Am. J.* vol 58, 354 – 357
- Jan, W. M., T. A. Pijmenborg, T. A. Lie y A. J. B. Zehnder. 1990. Simplified measurement of soil pH using an agar – contact technique. *Plant and Soil*, 126, 155 – 160.
- Tan, K. H. 1996. *Soil Sampling, preparation and analysis.* Marcel Dekker, Inc., New York. p 96 - 113
- Helyar, K. R. y W. M. Porter. 1989. Soil acidification, its measurement and the processes involved. In Robson (Ed) *Soil acidity and plant growth.* Academic Press. p 61 - 101
- Helyar, K. R., P. D. Cregan y D. I. Godyn. 1990. Soil acidity in New South Wales. Current pH values and estimates of acidification rates. *Aust. J of Soil Res.* 28, 523 – 537
- Conyers, M. K., N. C. Uren y K. R. Helyar. 1995. Causes in pH in acidic mineral soils. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 27, Nr.11, 1383 – 1392
- Pansu, M., J. Gautheyrou y J. Y. Loyer. 1998. *L'Analyse du sol; echantillonnage, instrumentation et controle.* Masson, Paris.
- Vam Breemen, N., J. Mulder y T. Driscoll. 1983. Acidification and alkalinization of soils. *Plant and Soil*, 75. 283 - 308
- Ruth, P. y K. M. Gho. 1992. Effects of urea fertigation of Apple tres on soil pH, exchangeable cations and extractable manganese in a Sandy loam soil in New Zealand. *Fertilizer Research.* 33, 239 – 247
- Xie, R. J. y A. F. Mackenzie. 1990. Mechanisms of pH decrement in three températe soils treated with phosphate. *Soil Science*, 150 (3), 602 – 612
- Aitken, R. L. y P. W. Moody. 1991. Interrelations between soil pH measurements in various electrolytes and soil solution pH in acidic soils. *Aust. J. Soil Res.*, 29, 483 – 491.
- Poss, R., C. J. Smith, F. Dunin y J. F. Angus. 1995. Rate of acidification under wheat in a semi arid environment. *Plant and Soil.* 177, 85 – 100.

- Houba, V. J. G., I. Novosamsky, H. W. M. Huybregts y J. J. van der Lee. 1986. Comparison of soil extractions by 0,01 M CaCl<sub>2</sub>, by EUF and some conventional extraction procedures. *Plant and Soil*, 96, 433 – 437
- Houba, V. J. G., Th. M. Lexmond, I. Novosamsky y J. J. van der Lee. 1996. State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment. *The Science of Total Environment*, 178. 21 – 28
- Slattery, W. J. y V. F. Burnett. 1992. Changes in soil pH due to long term soil storage. *Aust. J. Soil Res.*, 30, 169 – 175

## DETERMINACIÓN DE LA NECESIDAD DE CAL

### Introducción

La necesidad de encalamiento obedece en general más a la necesidad de subir el pH que de aportar el calcio. Este elemento es, por supuesto, necesario para una nutrición mineral equilibrada de los cultivos, pero en cantidades modestas del orden de 30 a 100 kg Ca por hectárea y por año. Ello nada tiene que ver con el calcio aportado por el encalamiento que puede ser cinco a veinte veces superior según el pH inicial y la cantidad de Al<sup>3+</sup> intercambiable. Lo que importa más que todo es que el efecto de la subida del pH consiste primero en aumentar la velocidad de mineralización de la materia orgánica del suelo, y segundo en eliminar los iones Al<sup>3+</sup> tóxicos de la solución del suelo.

Según los cultivos, se elegirá un pH óptimo tomando en cuenta las dificultades económicas (el mínimo de coste, para el mejor rendimiento posible), y la tolerancia de los vegetales frente a la acidez y la toxicidad Al<sup>3+</sup>. Las arcillas progresivamente se saturan por Ca<sup>2+</sup>, lo que obliga a equilibrar los otros abonos en particular los orgánicos.

Es a menudo suficiente estudiar la zona de pH entre 4 y 6 donde se ubica el pH crítico de precipitación de Al(OH)<sub>3</sub> (K<sub>ps</sub>= 1 x 10<sup>-32</sup>) alrededor de 4,30 - 5,70. Para muchos grandes cultivos de grande incidencia económica, a partir de este pH se mejora la asimilación de N, P, K, Ca, Mg, S, B. Por lo contrario, si el pH supera 7,5, aparecen carencias en P, B, Zn, Fe, pero si se trata de reducir la toxicidad de Mn, un pH elevado puede a veces ser necesario.

### Técnicas de evaluación de la necesidad de cal

La necesidad de cal se expresa al laboratorio en miliequivalentes de CaCO<sub>3</sub> por kg de suelo y en agronomía en toneladas de CaCO<sub>3</sub> por hectárea. En la práctica, se utilizan los tres siguientes tipos de enfoque:

- un análisis por incubación con CaCO<sub>3</sub>, método largo que se desarrolla en condiciones similares al terreno (humedad, temperatura, actividad microbiana),
- un equilibrado con cantidades progresivas de Ca(OH)<sub>2</sub> (agua de cal) y titulación después de un contacto de algunas horas,
- un equilibrado con soluciones tampón que permiten neutralizar la acidez sin someter el suelo a pH superior al que se desea alcanzar, tomando en cuenta la matriz-suelo y las culturas consideradas.

## Método tampón (buffer)

Este método fue propuesto por Shoemaker, McLean y Pratt (1962) de ahí su definición SMP. Se utiliza un tampón (buffer) complejo cuyo pH es próximo a la neutralidad, el del equilibrio carbonato-bicarbonato  $\text{-CO}_2$  de la atmósfera del suelo a presión normal. Permite neutralizar a la vez bases o ácidos y resistir a las variaciones de pH cuando se opera en un sistema suelo mismo que presenta un poder tampón no desdeñable. De esta manera, el suelo no se somete a subidas locales de pH demasiado importantes.

El pH de una solución expresa un nivel de energía de protones, el pH de un tampón mide la acidez potencial. El cambio de pH del tampón permite cuantificar la necesidad de cal en los suelos cuyo pH agua inicial es inferior a 6,0 y cuya toxicidad aluminica es elevada.

El método descrito aquí es el del doble tampón (McLean, 1982; Sims, 1996), que reanuda en parte el protocolo del método SMP (Shoemaker, McLean y Pratt, 1962) de puesta en equilibrio en un tampón completándolo (McLean *et al.*, 1977; 1978).

### Reactivos

- Tampón SMP pH 7,5
- Pesar 3,24 g de p. nitrofenol PA (pureza analítica)
- $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$  (PM = 139,11)
- pesar 5,40 g de cromado de potasio PA;  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  (PM = 194,20)
- pesar 95,58 g de cloruro de calcio dihidratado  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (PM = 147,03)

### Procedimiento preliminar

Colocar estos reactivos en un frasco pyrex de dos litros, llevando una control de capacidad a 1.800 mL con alrededor de 900 mL de agua. Agitar por revocación durante cinco minutos para evitar la toma en masa solución A.

- pesar 3,60 g de acetato de calcio PA  $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{-COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  PM 176,18 y disolver en 500 mL de agua permutada: solución B;
- mezclar la solución A y la solución B (sea solución C), mezclar con un agitador rotatorio durante las 3 horas
- añadir 4,5 mL de trietanolamina  $\text{N}(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{OH})_3$  PM = 149,19 y mezclar con un agitador rotatorio durante 8 horas sea solución D;
- traer a 1.800 mL y ajustar a pH 7,5 con NaOH 0,2 Mol  $\text{l}^{-1}$  con pHmetro;
- filtrar y conservar al refugio  $\text{CO}_2$  del aire interponiendo un tubo de asca (amianto impregnado de NaOH) entre dos tubos de anhídrita (sulfato de Ca anhidro) y utilizar rápidamente.

### Modo operatorio

En un tubo de centrifugación de 50 mL que puede cerrarse herméticamente:

- pesar 5 g de suelo secado al aire (o equivalente a 105°C) y reducido a 0,5 mm.

- añadir 5 mL de agua.
- mezclarse y dejar en contacto 1 hora.
- con un pHmetro previamente estandarizado a pH 7,0 y 4,0, medir el pH de la suspensión de suelo agitando el electrodo en la pasta fluida hasta lectura estable o sea el pH agua.
- añadir 10 mL de solución tampón a esta suspensión y agitar durante 15 minutos; dejar descansar 15 minutos y medir el pH de la suspensión al agitar hasta estabilización o sea pH<sub>1</sub> suelo-tampón; es el pH de la suspensión antes de toda adición de ácido.
- añadir a la suspensión una alícuota de HCl equivalente a la cantidad pedida para traer 10 mL de solución-tampón pH 7,5 a pH 6,0 (1 mL de HCl 0,206 mol L<sup>-1</sup> = 0,206 mmol L<sup>-1</sup>).
- agitar durante 10 minutos - dejar descansar 30 minutos y leer el pH de la suspensión al agitar sea pH<sub>2</sub> suelo-tampón; es el pH final de la suspensión del medio suelo-tampón después de adición de ácido HCl.

La acidez "A" medida en mmol (H<sup>+</sup>) para 5 g de suelo se escribe:

$$A = \Delta pH_2 \frac{\Delta d_2^0}{\Delta pH_2^0} + \left[ \left( \Delta pH_1 \frac{\Delta d_1^0}{\Delta pH_1^0} - \Delta pH_2 \frac{\Delta d_2^0}{\Delta pH_2^0} \right) \left( \frac{6,5 - pH_2}{pH_1 - pH_2} \right) \right]$$

donde  $\Delta pH_1 = 7,5 - pH_1$   
 $\Delta pH_2 = 6,0 - pH_2$

$\frac{\Delta d_1^0}{\Delta pH_1^0}$  = Cambio de la acidez (por unidad de pH) de 10 mL del tampón 7,5 obtenido por titulación con HCl normal, lo que representa sensiblemente 0,137 mmol por unidad pH

$\frac{\Delta d_2^0}{\Delta pH_2^0}$  = Cambio de la acidez (por unidad de pH) de 10 mL del tampón traído a pH 6,0, lo que representa sensiblemente 0,129 mmol por unidad pH que se desea alcanzar en el suelo después de encalado.

La necesidad de cal, *Encal*, es expresada en el laboratorio, en  $cmol(+)/kg^{-1}$ , por:

$$Encal = 33,8 \times A - 0,86$$

O sea, al campo hasta 20 cm de profundidad con una densidad aparente del orden de 1,3 a 1,5 *Encal* en ton ha<sup>-1</sup> será:

$$Encal = 45,5 \times A - 1,16$$

## Observaciones

Este método toma en cuenta la totalidad de H<sup>+</sup> y Al<sup>3+</sup> solubles y cambiables. Se adapta bien a los suelos que piden una corrección en cal superior a 1 tonelada por hectárea (capa de suelo de 20 de

cm) cuyo pH es inferior a 5,8-6,0. El contenido en materia orgánica no debe sobrepasar un 15% aproximadamente. Sobre pH 6,0, es inútil efectuar esta determinación, el suelo no requiriendo encalado en general, pero eventualmente un abono cálcico adaptado.

Los suelos muy orgánicos no son mejorados significativamente por el encalado a menos que su pH sea menor a 5,3. El método de Adams y Evans (1962) es una técnica también rápida por equilibrado en solución tampón (pH 8,0), a menudo utilizada en los suelos de escasa materia orgánica o arenosos.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Adams, F. y C. E. Evans. 1962. A rapid method for measuring lime requirement of red-yellow podzolic soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 26, 355-357.
- McLean, E. O. 1982. Soil pH and lime requirement. In *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties 2<sup>nd</sup>. edition*, Page A.L., Miller R.H., Keeny D.R. (eds.) Amer. Soc. Agronomy, Soil Sci. Soc. Amer., pp. 199-224.
- McLean, E. O., D. J. Eckert, G. Y. Reddy y J. F. Trierweiler. 1978. An improved SMP soil lime requirement method incorporating double-buffer and quick-test features. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42, 311-316.
- McLean, E. O., J. F. Trierweiler y D. J. Eckert. 1977. Improved SMP buffer method for determining lime requirement in acid soils. *Commun. Soil Sc. Plant anal.*, 8, 667-675.
- Sims, J. T. 1996. Lime requirement. In *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*, Bigham J.M. et Bartels J.M., Soil Sci. Soc. of Amer., Amer. Soc. Agronomy, Madison, WI, 491-515.

## BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA SOBRE EL ENCALAMIENTO

- Probert, M. E. 1995. *Plant-soil interactions at low pH: principles and management*. pp. 479-484. En: R. L. Aitken, et al. (ed.), *Proceedings of the Third International Symposium, Brisbane*. Kluwer Academic Publishers; Dordrecht.
- Almeida, de A. M. y E. Bornemisza. 1977. Efecto del encalado sobre las cargas eléctricas y otras propiedades químicas de tres inceptisoles de Costa-Rica. *Turrialba*, 27, 333-342.
- Alva, A. K., D. G. Edwards, C. J. Asher y F. P. Blamey. 1986. Effects of phosphorus/aluminum molar ratio and calcium concentration on plant response to aluminum toxicity. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50, 113-137.
- Bailey, J. S., R. J. Stevens y D. J. Kilpatrick. 1989. A rapid method for predicting the lime requirement of acidic temperate soils with widely varying organic matter contents: I - development of the lime requirement model. *J. of Soil Sci*, 40, 807-820.
- Borges, A. L., J. M. Braga, B. V. Defelipo, C. A. Ribeiro y J. T. Thiebaut. 1987. Evaluation of analytical methods for estimating soil liming requirement. *Revista Cérés*, 34, 17-32.
- CAB. 1971. Annotated bibliography n° 1529. *Liming of tropical soils 1971-1959*. CAB : 25 pages, 101 references.
- Chaminade, R. 1933. Mode d'action de la chaux sur les sols et correction de leur activité. *Ann. Agron.*, 453-477.
- Clark, J. S. y W. E. Nichol. 1966. The lime potential, percent base saturation relations of acid surface horizons of mineral and organic soils. *Can. J. Soil Sci.*, 46, 281-315.
- Cochrane, T. T., J. C. Salinas y R. A. Sanchez. 1980. An equation for liming acid mineral soils to compensate crop aluminium tolerance. *Trop. Agric.*, 57, 133-139.

- Collins, J. B., E. P. Whiteside y C. E. Cress, C. E. 1970. Seasonal variability of pH and lime requirements in several southern Michigan soils when measured in different ways. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 34, 56-61.
- Coutinho, J. 1997. Calibration of the single- and double- buffer SMP lime requirement methods by root elongation bioassay, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28, 1127-1139.
- Davy, H. 1813. Elements of agricultural chemistry. Longman
- Djondo, M. Y. 1995. Propriétés d'échange ionique des sols ferrallitiques argileux de la vallée du Niari et sableux du plateau Mbe-Bateke au Congo - application à la correction de leur acidité. Thèse, Document IRD (ex-Orstom) Montpellier, France, 5.
- Duchaufour, P. y B. Souchier. 1980. pH et besoins en chaux. *C. R. Acad. Agric. (France)*, 66, 391-399.
- Gilmour, J. T. y P. Anderson. 2001. A new approach to lime recommendations in Arkansas. *Research Series Arkansas Agricultural Experiment Station*, 480, 39-41.
- Gustafsson, K. y J. V. Stafford. 1999. Models for precision application of lime. In *Precision agriculture, Papers-presented at the 2<sup>nd</sup> European Conference on Precision Agriculture*, Odense, Denmark, 11-15 July 1999, Sheffield Academic Press, Sheffield, UK.
- Haile, A., C. Pieri y C. Egoumenides. 1985. Effet des amendements minéraux sur les propriétés d'échange de sols acides tropicaux. *Agron. Trop.*, 40, 98-106.
- Harvey, K. C. y D. Dollhopf. 1986. *Acid mine-soil reclamation advancements in the Northern plains*. Montana State Univ. Research Publication (01).
- Kamprath, E. J. 1970. Exchangeable aluminium as a criterion for liming leached mineral soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 252-254.
- Martins, E. de S., N. W. Linhares, C. Giustina y E. de S. Martins. 2000. Rock analysis reference method for correcting soil acidity. Metodo de referencia para caracterizacao de rochas utilizadas como corretivos de acidez do solo. Comunicado-Tecnico -Embrapa-Cerrados., No.38, 3 pp.
- McLean, E. O. 1970. Lime requirements of soils. In active toxic substances or favorable pH range? *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 363-364.
- McLean, E. O. 1978. Principles underlying the practice of determining lime requirements of acid soils by use of buffer methods. *Commun. Soil Sci. Plant analysis*, 9, 699-715.
- Mehlich, A. 1939. Use of triethanolamine acetate-baryum hydroxide buffer for the determination of some base-exchange properties and lime requirement of soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 3, 162-166.
- Meng, C. F., J. Luu, F. G. Kong y J. G. Shui. 1986. Effects of limestone on soil acidity and crop yields on a red earth. *Soil Science Society of China. Current progress in soil research in people's republic of China*, 377-383.
- Naidu, R., J. K. Syers, R. W. Tillman y J. H. Kirkman. 1990. Effect of liming and added phosphate on charge characteristics of acid soils. *Journal of Soil Science*, 41, 157-164.
- Nóbrega, de M. T. 1988. Contribuição ao estudo da estabilização de solos tropicais com adição de cal para fins rodoviários. Aspectos mineralógicos e morfológicos de alguns solos das regiões sul e sudeste do Brasil. Dissertação de mestrado Univ. Sao Paulo, 189 p.
- Nõmmik, H. 1983. A modified procedure for rapid determination of titrable acidity and lime requirement in soils. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 33, 337-348.
- Oates, K. M. y E. J. Kamprath. 1983. Soil acidity and liming. I: effect of the extracting solution cation and pH on the removal of aluminium from acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 47, 686-689.
- Oates, K. M. y E. J. Kamprath. 1983. Soil acidity and liming. II - Evaluation of using aluminum extracted by various chloride salts for determining lime requirements. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 47, 690-692.

- Owusu-Bennoah, E., D. K. Acquaye y T. Mahamah. 1995. Comparative study of selected lime requirement methods for some acid Ghanaian soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26, 937-950.
- Ozenc, D. B. y S. A. Mehlenbacher. 2001. Methods of determining lime requirements of soils in the Eastern Black Sea hazelnut growing region. *Acta Horticulturae*, 556, 335-341.
- Pavan, M., A., F. T. Bingham y P. F. Pratt. 1984. Redistribution of exchangeable calcium, magnesium, and aluminum following lime or gypsum applications to a brazilian oxisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 33-38.
- Pintro, J. C. y M. D. Tesaro. 1999. Correction of an acid soil using the base saturation method and influence on chemical parameters. *Acta Scientiarum*, 21, 479-482.
- Pottker, D. y J. R. Ben. 1998. Lime for a crop rotation under direct planting. Calagem para uma rotacao de culturas no sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 22, 675-684.
- Terry, R. E. 1998. Testing soils for lime requirement. pp. 293-308. En: Quigley, M. N., y A. Wallace. (ed.) *Handbook of soil conditioners: substances that enhance the physical properties of soil*, Marcel Dekker Inc., New York,
- Rajkhowa, K. M. y M. C. Talukdar. 1999. Lime requirement of soils as influenced by soil test methods, *Journal of the Agricultural Science Society of North East India*, 12, 9-12.
- Rossel, R. A. V. y A. B. McBraney. 1998. A response-surface calibration model for rapid and versatile site-specific lime-requirement predictions in south-eastern Australia, *Australian Journal of Soil Research*, 2001, 39, 185-201.
- Rossel, R. A. V., A. B. McBraney y J. V. Stafford. 1999. Calibration of a lime requirement buffer for site-specific lime applications in South-Eastern Australia. *Precision agriculture, Papers-presented at the 2<sup>nd</sup> European Conference on Precision Agriculture*, Odense, Denmark, 11-15 July 1999, Sheffield Academic Press, Sheffield, UK.
- Rossi, P. L., P. Ildefonse, A. T. de Nóbrega y A. Chauvel. 1990. Transformations mineralogiques et structurales d'argiles latéritiques brésiliennes provoquées par l'addition de chaux. *ORSTOM Séminaire «Organisation et fonctionnement des altérites et des sols (5 fév.) Thème 5 (multigraphié)*.
- Shoemaker, H. E., E. O. McLean y P. F. Pratt. 1962. Buffer methods for determination of lime requirement of soils with appreciable amount of exchangeable aluminium. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 25, 274-277.
- Totev, T. P., T. D. Palaveyev y V. Kolarov. 1982. Advantages of a KCl extracts for determining soil acidity and liming requirements. *Pochvovedeniye*, 3, 117-120.
- Tsakelidou, R. 1995. Comparison of lime requirement methods on acid soils of northern Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26, 541-551.
- Yuan, T. L. 1974. A double buffer method for the determination of lime requirement of acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 38, 437-440.

## **ANÁLISIS ELEMENTAL DE LOS CONSTITUYENTES ORGÁNICOS C, N, H, O, S**

### **Materia orgánica del suelo**

La mineralización permite la transformación de los residuos orgánicos en compuestos minerales utilizables por la flora y los microorganismos. La inmovilización (término general que incluye tanto la organización del nitrógeno mineral, como la insolubilización por adsorción y polimerización) representa la transformación de la materia orgánica libre, en compuestos más

estables de peso molecular elevado, o en compuestos órgano-minerales y a veces su fijación en los espacios interfoliares de las arcillas. Se pueden resumir estos procesos por el esquema de la Figura AA6.

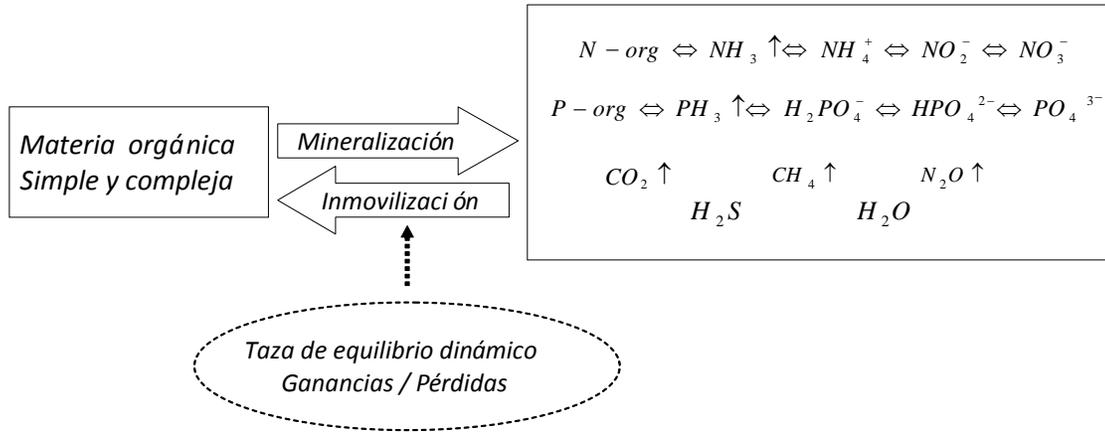


Figura AA6. Esquema general de la transformación de la materia orgánica.

Se pudo establecer, desde hace mucho tiempo, que la relación C/N de los horizontes de superficie, da un reflejo bastante fiel y confiable de la actividad biológica y de los equilibrios de los elementos sometidos a los procesos antagónicos de mineralización e inmovilización. Generalmente la relación C/N en los suelos cultivados es del orden de 10 a 12 y luego disminuye con la profundidad sobre todo si hay lixiviación de nitratos y fijación de amonio por las arcillas. En suelos cultivados, los residuos de cosecha reciclados in situ presentan relaciones C/N aproximadamente de 15 a 60 que corresponden a la presencia de compuestos vegetales (celulosa-lignina) de degradación lenta.

### Carbono total

En realidad el "carbono total" del suelo incluye tres fases principales:

- el carbono orgánico (residuos orgánicos poco alterados de origen vegetal y animal, humus, carbón de madera, materias orgánicas fósiles, microorganismos)
- el carbono inorgánico eventualmente presente en forma de carbonatos y bicarbonatos.
- el carbón inorgánico que proviene de la combustión incompleta de material vegetal, formas abundantes en suelos de sabana sometidos a incendios periódicos.

$$C_{Total} = C_{mineral} + C_{orgánico} + C_S$$

Las fases gaseosas presentes en la atmósfera del suelo no se toman en cuenta en la mayoría de los métodos ( $CO_2$  vinculado a la actividad biológica,  $CH_4$ ).

Existe a menudo alguna ambigüedad en las terminologías y los métodos. En efecto, las dosificaciones efectuadas directamente por vía seca en aparatos de tipo CHN (OS), sin eliminación previa de los carbonatos, dan efectivamente el "carbono total" orgánico e inorgánico, mientras que las dosificaciones por óxido-reducción por vía húmeda, sólo dan el "carbono orgánico" que corresponde a las formas humificadas y a la "materia orgánica ligera", aún rica en celulosa no transformada, pero no incluyen ni el carbón ni las materias orgánicas fósiles.

Como los métodos por vía húmeda no permiten el ataque completo del humus a la temperatura de reacción, se requiere un índice de corrección. Sin embargo, se les llama *métodos de determinación del "carbono orgánico total"*.

Se habla también a menudo de las "*materias orgánicas totales*" que expresan empíricamente el "*carbono orgánico total*" determinado por oxidación-reducción pero corregido por un coeficiente basado en la hipótesis de una materia orgánica compuesta principalmente de sustancias húmicas y que tienen aproximadamente 58% de carbono ( $100/58 = 1,724$  factor Van de Bemmelen).

En realidad, este contenido dista mucho de ser constante, no puede considerarse como muy realista, especialmente para los suelos poco humificados, los suelos forestales, así como los suelos turbosos. Es entonces preferible utilizar por aproximación un coeficiente de 2 y a veces de 2,5. Esta expresión de "*materias orgánicas totales*" debe ser considerada más como un índice que una realidad concreta del suelo.

En la práctica, algunos autores a menudo utilizarán el término de "*carbono total*" erróneamente para designar el "*carbono orgánico total*" que permite establecer las relaciones C/N, efectuar comparaciones entre los tipos de los distintos horizontes de un perfil y la distribución de C orgánico en función de la profundidad.

La expresión "*carbono orgánico total*" debería en realidad representar sólo el conjunto de las sustancias orgánicas, primero las sustancias activas en la dinámica de C del suelo (Sustancias húmicas, residuos microbianos) bajo la influencia de las reacciones bioquímicas y químicas, y luego también las materias orgánicas ligeras aún incompletamente divididas que no pudieron ser separadas sobre tamiz en la preparación de las muestras tales como literas, residuos gruesos de origen vegetal, o animal, poco transformados pero de tamaño inferior a 2 mm.

Las materias orgánicas fósiles (carbones, naftas, resinas) y los residuos de carbón de madera en las zonas sujetas a incendios forestales, o post-cultivos no entran en esta dinámica, lo que justifica el hecho de no tomarlos en cuenta cuando se utiliza óxido-reducción por vía húmeda. Por el contrario, por vía seca, se incluyen obligatoriamente estas formas, lo que puede introducir errores de interpretación, si se deben comparar resultados obtenidos por los dos métodos, por ejemplos en suelos formados a partir de rocas y esquistos bituminosos, de horizontes sujetos a recientes accidentes climáticos antiguos o (incendios forestales, tala), de afloraciones de carbones fósiles, entre otros.

El estudio del carbono orgánico debería a menudo completarse por:

- a observación micromorfológica a distintas escalas, para establecer las proporciones relativas del contenido en materias orgánicas ligeras y humificadas, en relación con extracciones selectivas en distintos medios;
- la determinación del origen, la naturaleza y los tipos de mineralización de las distintas formas en función del pH, de la naturaleza de las arcillas y del complejo arcillo-húmico, de la gestión del suelo.

La separación de los fragmentos no divididos, siendo imposible en la práctica de análisis de rutina, se considera que las partículas de tamaño inferior a 2 mm son representativas. Distintos tipos de pruebas pueden realizarse para comprender mejor el medio que debe analizarse y orientar los análisis.

- Examen a la lupa: presencia de conchas, enmiendas calcáreas, carbones (suelos bajo cultivos, suelos costeros, suelos calcáreos).
- Pruebas HCl: por debajo de pH 7,4 - 7,0, la presencia de carbonatos y bicarbonatos se limita a la presencia de partículas aisladas.
- Prueba  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ : Un control rápido con un estuche analítico de terreno es útil en suelos cultivados intensivamente y en suelos hidromorfos.

- Presencia de  $\text{NH}_4^+$  fijado, u ocluido, en los suelos conteniendo arcillas 2:1 (comprobar eventualmente por otro método y por destrucción las arcillas).

En conclusión, se debe añadir que la ventaja de los métodos por vía húmeda es que sólo exigen una pequeña inversión en material, lo que los hace accesible a todos los laboratorios. Además, permiten trabajar con muestras de tamaño importante, más representativas del medio natural. Pero, son costosas en tiempo, requieren la manipulación de productos muy corrosivos y exigen la eliminación de productos contaminantes ( $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), lo que puede plantear problemas para el medio ambiente que rodea el laboratorio.

### **Muestreo, preparación de las muestras para determinar C H N O S y su representatividad**

Las mediciones de C y N totales pueden ser realizadas por métodos simples, accesibles a todos los laboratorios. La evolución de los equipos e instrumentos de análisis por vía seca, del tipo CHNOS (combustión por vía seca), permite facilitar estos análisis combinando precisión, rapidez, automatización y permitiendo determinaciones simultáneas.

#### Materiales necesarios

- Tamiz de agujeros redondos.
- Trituradora de cuchillos con tamiz de 0,125 mm y recipientes colectores sellados para desechos orgánicos.
- Trituradora de mazarotas retractable con tamiz de 0,125 mm y colector apretado (horizontes mineral y organomineral).
- Mortero de ágata con mazo.
- Balanza analítica de precisión 0,1 mg (o 0,01 mg según ámbito ponderal)
- Estufa a 105 °C.

### **Pruebas preliminares**

Un buen conocimiento de los procesos de formación de los suelos analizados y de su utilización agrícola permite limitar las pruebas preliminares. Las pruebas dependen también del método que se utilizará. El método electo debe tomar en cuenta el hecho que las "materias orgánicas totales del suelo" corresponden, por convenio, a las formas alteradas y excluyen los residuos vegetales y animales no divididos.

#### Interferencias

En el Cuadro AA12 se señalan los principales tipos de análisis e interferencias. Las muestras pasan por un tratamiento previo por  $\text{HCl}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  en caso de presencia de carbonatos. Prolongar el contacto durante 2 ó 3 horas si se supone la presencia de dolomita, siderita o calcita biogénica.



Cuadro AA12. Tipos de Análisis e interferencias

Modalidad	Tipo	Interferencias
Vía seca	Combustión < 360°C	Yeso, pérdidas de agua arriba de 150°C distintas formas del agua.
	Combustión > 360°C	Descomposición de carbonatos CO <sub>2</sub> ↑ Fusión Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (tapaduras) distintas formas de agua (constitución...)
	N Kjeldahl clásico	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> recuperación aleatoria del NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> fijado en red de arcilla 2:1 (aleatorio)
Vía húmeda	C: Oxidación temperatura ambiente	Resultados por defecto (coeficiente multiplicativo) Cl <sup>-</sup> , oxidantes y reductores
	C: oxidación en caliente	Cl <sup>-</sup> , oxidantes y reductores

Las muestras que contienen siderita pueden ser tratadas en caliente por H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> o CH<sub>3</sub>COOH 0,3 mol (H<sup>+</sup>) L<sup>-1</sup> durante cinco horas. La destrucción es difícil, a menudo incompleta. Llevar a sequedad con precaución.

Es preciso evitar perder C orgánico soluble en los ácidos (aminoácidos, fosfo-lípidos). Igualmente, la formación de sales higroscópicas puede introducir errores en las pesadas y la presencia de dióxido de manganeso en el suelo puede causar la liberación de Cl<sub>2</sub> a partir de HCl en zona árida o semiárida. Las sales solubles eventualmente presentes pueden retrasar la oxidación de C orgánico debido a sus bajos puntos de fusión (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y perturbar las dosificaciones por vía seca (Cloruros, compuestos sulfurados).

### Carbono orgánico total por vía húmeda a temperatura de reacción

El método de dosificación del carbono orgánico total por el dicromato de potasio en medio abierto muy ácido, fue propuesto al origen por Schollenberger (1927), luego por Walkley y Black (1934) de donde toma su denominación el método. Después de una fase de oxidación/mineralización a la temperatura de reacción durante un tiempo determinado, el exceso de dicromato no reducido es valorado con solución valorada de Fe<sup>2+</sup>.

Numerosos autores estudiaron los parámetros de esta mineralización del C: efecto de la concentración del ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) y del dicromato de potasio, de la temperatura crítica de oxidación (de la temperatura de reacción superiores a 210°C), del tiempo de contacto y la necesidad de condensar los vapores para evitar una concentración demasiado elevada del medio, para limitar la destrucción del oxidante evitando un recalentamiento de las paredes. La elección de la temperatura ha dado lugar a dos tipos de métodos:

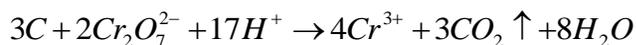
- a temperatura de reacción a 120°C (Walkley y Black, 1934);
- a ebullición estandarizada a 150°C (Anne, 1945, Mebius, 1960).

Para la dosificación por retroceso, se han propuesto distintos protocolos de separación suelo/solución por centrifugación y filtración, pero se adoptó generalmente la dosificación directa en la suspensión de suelo por volumetría.

Los indicadores de oxido-reducción (difenilamina, bario difenilamina sulfonato, ácido N-phényl anthranílico, o fenantrolina ferrosa) pueden eventualmente absorberse sobre las arcillas. Aditivos permiten mejorar la lectura acomplejando los productos coloreados formados o disueltos (Fe<sup>3+</sup>) que pueden encubrir la reacción (NaF, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>).

## Mineralización

Las formas de C orgánico se oxidan en presencia de dicromato de potasio en exceso. La reacción en medio ácido concentrado es exotérmica (120°C aproximadamente). Se desarrolla a una notable velocidad en estas condiciones:



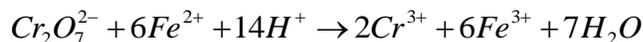
Las cantidades de dicromato reducido se consideran como cuantitativamente relacionadas al carbono orgánico presente. Se supone una susceptibilidad de reducción idéntica para las distintas formas de C orgánico y una estabilidad del estado reductor durante la mineralización. En realidad a la temperatura de reacción sin calefacción, es necesario utilizar un factor de corrección, ya que solamente se oxidan las formas más activas, del orden 60% al 80%. Este factor se fijó arbitrariamente en 1,30 (100/76), pero puede variar según los suelos y los tipos de vegetación entre 1,10 y 1,45 para tener en cuenta la resistencia variable de las formas de carbón activas a la oxidación. Los compuestos oxidantes o reductores presentes interfieren también en la reacción.

Las formas inorgánicas del carbono (carbonatos, bicarbonatos) no interfieren, sino por un consumo de ácido y producción de espumas. La precipitación de  $CaSO_4$  puede tapan el sistema si se desea terminar la dosificación por espectrofotometría.

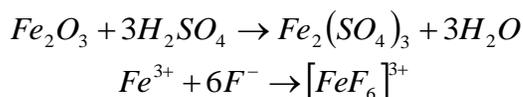


## Dosificación volumétrica: titulación

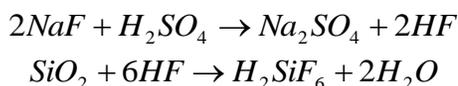
Se utiliza un exceso conocido de  $Cr^{6+}$  ( $K_2Cr_2O_7$ ) y parte del cual será consumido y reducido a  $Cr^{3+}$  en medio ácido. La cantidad de  $Cr^{6+}$  que reaccionó se titula por retroceso con solución valorada de  $FeSO_4$  o  $(NH_4)_2SO_4Fe$  (sal de Mohr) y ferroína (o difenilamina) como indicador y un cambio de color de azul a marrón en el punto de equivalencia. Conociendo la cantidad agregada y titulando lo que sobró, por diferencia se obtiene la cantidad de  $Cr^{6+}$  que reaccionó.



Se agrega fluoruro de sodio (o ácido fosfórico  $H_3PO_4$ ) para formar un complejo incoloro con el hierro  $Fe^{3+}$  en solución o producido por la reacción. En este caso el cambio de color se ve mucho mejor.



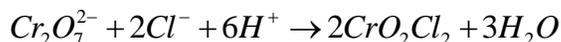
La adición de fluoruro presenta un inconveniente debido a la formación de ácido fluorhídrico que ataca el vidrio y los silicatos:



En consecuencia, es necesario limpiar la vidriería a partir del final de dosificación y reservarla a este uso.

### Interferencias

- En los suelos salinos, los cloruros formando cloruro de chromyl, causan un error positivo:



- El hierro ferroso eventualmente presente puede modificar la cantidad de sulfato ferroso necesario para la dosificación por retroceso. Correcciones serán necesarias en los suelos hidromorfos donde  $Fe^{2+}$  puede ser abundante. En los suelos sulfatados ácidos, ricos en piritita ( $FeS_2$ ), el método no es utilizable:



$Mn^{2+}$  puede también interferir si su nivel es elevado, así como el hierro metálico procedente eventualmente de un desgaste de los materiales de trituración, por ejemplo.

### *Equipos e instrumentos*

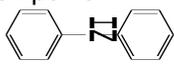
- Balanzas analíticas 0,1 mg de precisión y top-loading de hasta 500 g ( $\pm 1$  mg).
- Erlenmeyers Pyrex de 500 mL de boca ancha.
- Placas aislantes.
- Distribuidores de fracciones de Téflon.
- Bureta de valoración volumétrica.
- Agitador magnético con imanes Téflon.

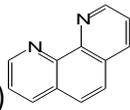
### *Reactivos*

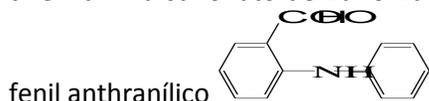
Todos los productos deben ser de calidad analítica.

- Agua destilada o bidestilada (evitar el agua desmineralizada, que puede implicar finas partículas de resinas intercambiador de iones).
- Dicromato de potasio (estándar primario)  $1 \text{ mol (e}^-) \text{ L}^{-1}$  (1 N): en un frasco de 1000 mL exacto, disolver 49,040g de  $K_2Cr_2O_7$  (secado bajo vacío o en presencia de  $P_2O_5$ ) en 800 mL de agua bidestilada, luego completar a 1 000 mL
- Sulfato doble de hierro y amonio (sal de Mohr)  $0,5 \text{ mol (e}^-) \text{ L}^{-1}$ : en un frasco de 1000 mL exacto, disolver 196,05g de  $Fe(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$  (secado en presencia de  $P_2O_5$  bajo vacío) en 800 mL de  $H_2SO_4$   $0,5 \text{ mol(H}^+) \text{ l}^{-1}$ . Completar a 1000 mL con  $H_2SO_4$   $0,5 \text{ mol (H}^+) \text{ L}^{-1}$  (0,5 N) El líquido debe ser transparente y de color verde pálido
- Ácido sulfúrico concentrado  $H_2SO_4$   $d = 1,84$
- Ácido sulfúrico  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ : en una probeta de 1 000 mL, agregar 800 mL de agua destilada, luego lentamente 13,9 mL de  $H_2SO_4$  concentrado de pureza analítica. Homogeneizar. Dejar enfriarse y completar a 1 litro con agua destilada
- Ácido fosfórico concentrado  $H_3PO_4$   $d = 1,71$  (85%);

- Fluoruro de sodio NaF en polvo

- Indicador difenilamina  : disolver 0,5g de difenilamina en 100 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Añadirla a 20 mL de agua destilada y guardar en un frasco de vidrio marrón oscuro con tapa esmerilada y goteadora.

También se puede usar otro indicador llamado o-fenantrolina (1-10 fenantrolina)  : que forma un complejo coloreado ferroína con Fe<sup>2+</sup>. Disolver 14,85 g de o- fenantrolina monohidratada y 6,950g de sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O), en 800 mL de agua destilada. Llevar a 1000 mL en frasco calibrado guardar en una botella de vidrio marrón oscuro - o la difenilamina sulfonato de Bario Ba (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-NH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> en solución en agua destilada - o el ácido N.



### Modalidad de ejecución

- Si N total se analizó previamente, determinar el peso de suelo aproximado necesario para tener una cantidad de C del orden de 10 a 25 mg (Cuadro AA13). Hacer pasar en un Erlenmeyer de 500 mL de cuello amplio y añadir, por medio de un distribuidor de fracción de precisión, 10 mL de bicromato de potasio 1 mol (e<sup>-</sup>) L<sup>-1</sup>. Homogeneizar cuidadosamente evitando hacer subir la suspensión sobre las paredes. Añadir rápidamente con un distribuidor en Teflón 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.
- Agitar por rotación para homogeneizar durante unos minutos (la temperatura de reacción esta cerca de 120°C). Depositar sobre una placa aislante y dejar la oxidación efectuarse durante 30 minutos.
- Añadir 200 mL de agua destilada, luego 10 mL de ácido fosfórico (o alrededor de 5 g de fluoruro de sodio con un medidor adaptado). Homogenizar. Añadir 3 gotas de difenilamina.
- Titular el exceso de dicromato con la sal de Mohr 0,5 mol (e<sup>-</sup>) L<sup>-1</sup> (este reactivo debe ser titulado cada día exactamente) o sea V mL. El punto de titulación por retroceso se hace del azul tirando de violeta al azul verde bastante luminoso. Conviene, al momento del cambio de color, añadir 1 a 2 gotas de indicador.

### Expresión del resultado

Se admite que el oxígeno consumido es proporcional al carbono presente en la muestra, sobre la base teórica 1 mL dicromato normal = 3 mg C, corrigiendo esta relación teórica por el coeficiente de ataque (1,3 = 100/76) lo que da 3,9 mg C por mL de dicromato normal. Este coeficiente de ataque puede modularse en función de las formas de C y en comparación con las dosificaciones por calcinación. En estas condiciones, el carbóno orgánico total, COT, en g C por kilogramo de suelo seco (a 105 °C) está dada por:

$$COT = \frac{3,9 \times (10 - 0,5V)}{p}$$

donde  $P$  corresponde al peso de toma de prueba en g y  $V$  corresponde al volumen de sal de Mohr de título exacto  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  (sino, sustituir en la fórmula, 0,5 por el título exacto). Los materiales orgánicos totales,  $MOT$ , en g por kilogramo de suelo seco (a  $105^\circ\text{C}$ ), se pueden estimar entonces por:

$$MOT = 1,724 \times COT$$

Cuadro AA13. Toma de prueba aconsejada según el contenido en nitrógeno

N ( $\text{g kg}^{-1}$ )	Peso muestra (g)	mg C evaluado	N ( $\text{g kg}^{-1}$ )	Peso muestra (g)	mg C evaluado
0,1 a 0,2	10	10 a 20	1 a 2	1	10 a 20
0,3 a 0,4	5	15 a 20	3 a 4	0,5	15 a 20
0,5 a 0,9	2,5	12,5 a 22,5	5 a 10	0,2	10 a 20

Nota: después del ataque de la materia orgánica, la solución debe ser aún anaranjada mostrando el exceso de bicromato. Si la solución es verde, es necesario reiniciar con un peso de suelo más bajo.

### Control

Cada día, efectuar dos dosificaciones con 10 mL de dicromato  $1 \text{ mol (e}^{-})\text{L}^{-1}$  para comprobar el título exacto de la sal de Mohr. En cada serie, efectuar dos dosificaciones a blanco con cuarzo calcinado a  $1.100^\circ\text{C}$ , y dos dosificaciones de una muestra de suelo de referencia, de tipo cercano a las muestras analizadas.

Fuera de este método básico y tradicional, es preciso señalar la existencia de dos variantes del mismo que son más adaptados a laboratorios que procesan en serie grandes cantidades de muestras. La primera variante consiste en controlar la temperatura de reacción a  $150^\circ\text{C}$  (según Anne, 1945; luego Mebius, 1960) para evitar variaciones erráticas de la reacción sin llegar a la temperatura de descomposición del bicromato.

La segunda consiste a realizar una medición calorimétrica (absorción a 585 nm) del grado de oxidación (a  $135^\circ\text{C}$ ) de la solución filtrada de bicromato, en comparación con un estándar de glucosa suponiendo que la oxidación de cada átomo de C corresponde a cuatro  $e^{-1}$ .

Nota: Carbono de los suelos calcáreos

Para las muestras calcáreas, o los suelos recibiendo enmiendas calcáreas o enclados, si no hay siderita ( $\text{FeCO}_3$ ) difícilmente descomponible un tratamiento por HCl al 10% bastará destruir los carbonatos y bicarbonatos presentes.

- Pesar 100 mg de muestra en una cápsula de plata.
- Colocar la cápsula abierta sobre una placa a tecla de cerámica.
- Añadir lentamente, con una micro pipeta 0,1 a 0,2 mL de HCl al 10% según las cantidades consideradas en carbonato y bicarbonato.
- Dejar en contacto 2 horas luego añadir de nuevo 0,1 mL de HCl a 10%. Asegurarse que se termina la liberación gaseosa.

- Colocar la placa de cerámica sobre una placa que calienta a 60°C y traer a seco. Dejar enfriarse y sellar las cápsulas. Pasar sobre el analizador elemental CHN. Una segunda muestra puede pesarse, sin destruir los carbonatos. Se tiene así el contenido en C total y C orgánico total y por diferencia C inorgánico total.

## Nitrógeno total del suelo

Después del carbono, el hidrógeno y el oxígeno, el nitrógeno es el elemento más abundante en los tejidos vivos. Desempeña un papel principal en agricultura, siendo un elemento esencial para el crecimiento de las plantas. Las formas orgánicas en el suelo pueden alcanzar alrededor un 90% del nitrógeno total.

El método de análisis de "**N Total**" por vía húmeda deriva de la propuesta realizada por Kjeldahl (1883). Los compuestos nitrogenados orgánicos e inorgánicos incluyen, en proporciones variables:

- **formas minerales:**  $N - NH_4^+$  cambiante, o fijado, en las matrices mineral u organo-mineral,  $N - NO_3^-$  que puede ser la forma más importante bajo cultivos intensivos en los suelos que reciben muchos abonos minerales,  $N - NO_2^-$  en general desdeñable, excepto en suelos hidromorfos;  $N - NO_3^-$  y  $N - NO_2^-$  son formas solubles y pueden ser transferidas fácilmente a las aguas subterráneas por infiltración o percolación

- **formas orgánicas:** desde los aminoácidos más simples y las proteínas de las biomásas microbianas, animales y vegetales, hasta los compuestos humificados más evolucionados en asociación más o menos compleja con minerales amorfos o cristalizados. Un siglo de tentativas de clasificación de los constituyentes orgánicos separados artificialmente en laboratorio por métodos más o menos agresivos (desde el tamizado bajo agua hasta hidrólisis ácidas o alcalinas, las más agresivas, sin olvidarse de las innumerables tentativas de analizar el papel de la biomasa microbiana mediante el marcado por el trazador isotópico  $^{15}N$ ), no lograron establecer un conocimiento claro y definitivo de sus evoluciones en el tiempo y del papel de estos constituyentes en las relaciones suelo-planta. Por ello, nos limitaremos aquí a la descripción del análisis cuantitativo del nitrógeno orgánico total y del nitrógeno mineral.

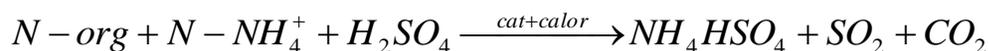
### Análisis de nitrógeno total por vía húmeda (método Kjeldahl)

El método Kjeldahl realiza la determinación las cantidades de nitrógeno total por medio de la conversión de las formas orgánicas nitrogenadas a forma amoniacal, el cual es destilado como  $NH_3$  en medio fuertemente alcalino, recuperado en un exceso de ácido conocido y finalmente es titulado por retroceso con solución patrón de NaOH.

El método consiste en tres fases: (1) Digestión Kjeldahl o mineralización, (2) destilación del  $NH_3$  en medio alcalino y (3) la determinación del  $N - NH_4^+$  por medio de una titulación ácido base.

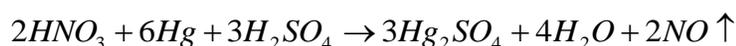
#### *Mineralización o digestión*

Se realiza por medio de la **digestión Kjeldahl**, la cual consiste en la destrucción de las materias orgánicas por vía húmeda en medio de ácido sulfúrico concentrado en presencia de unos catalizadores y temperatura elevada.



El catalizador más utilizado es una mezcla de Selenio en polvo, óxido de mercurio II y sulfato de cobre. Debido a que la temperatura es importante en el proceso de digestión se añade sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ) para incrementar la temperatura de ebullición del ácido sulfúrico de 330 °C hasta un máximo de 390 °C, por encima de esta temperatura pueden ocurrir pérdidas de nitrógeno. La adición de iones sulfato ( $SO_4^{-2}$ ) impide las pérdidas de  $NH_3$  por la formación de  $(NH_4)_2SO_4$ .

El nitrógeno bajo forma amidea, imidea, de distintos compuestos, nitro N-N o nitroso N=O pasa en forma de sal de amonio. La estabilidad térmica y la subida de temperatura del medio de reacción están garantizadas por la adición de  $K_2SO_4$ . Nitratos y nitritos, en teoría, no participan a la reacción, incluso con un catalizador de mercurio, pero la presencia de vapores  $SO_2$   $SO_3$  complica la reacción aparente:



Nitratos y nitritos pueden ser reducidos por el ácido salicílico y el hiposulfito de sodio  $Na_2S_2O_3$ , así como por la aleación Devarda: 50 % Cu, 45 % Al y 5 % Zn.

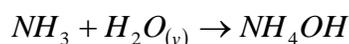
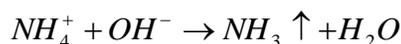
La exactitud y la precisión del método Kjeldahl dependen de la fase de digestión, ya que un cierto número de compuestos orgánicos nitrogenados no son digeridos completamente y otros son refractarios a la digestión Kjeldahl. Entre estas sustancias están complejos heterocíclicos como piridina, nicotina, alcaloides, aminoácidos como lisina, tirosina. Sin embargo, en suelos y plantas este tipo de compuestos están presentes a nivel de trazas o simplemente no están presentes.

El proceso de digestión Kjeldahl ha sido sujeto a diversas revisiones y modificaciones, justamente por sus dificultades que presenta. Con el tiempo se desarrolló el método **semi micro**, y los bancos de digestión que usaban balones Kjeldahl de gran volumen y que ocupaban grandes espacios, han sido sustituidos por bloques sólidos metálicos calentados eléctricamente (bloques digestores), que pueden contener tubos de vidrio de la mitad del volumen (o menos) y que pueden contener hasta 24 muestras en un espacio mucho más reducido.

Esta innovación trae consigo varias ventajas ya que el tiempo requerido para la operación se reduce, se pueden procesar un número mayor de muestras en menor espacio de laboratorio y mejora la reproducibilidad, ya que el calentamiento se puede controlar mejor y es más homogéneo.

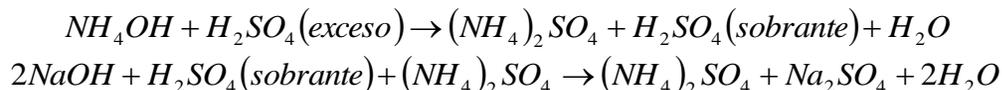
### Destilación

Después de la digestión, el amonio formado es liberado en medio fuertemente alcalino y destilado, preferiblemente por arrastre de vapor para mayor eficiencia en el arrastre del amoniaco.

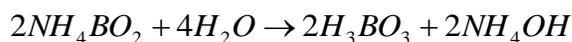
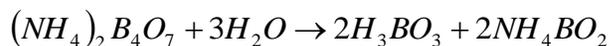
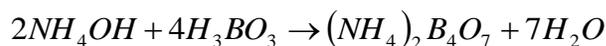


## Titulación

El  $N - NH_4^+$  producido es recolectado cuantitativamente en un exceso conocido de  $H_2SO_4$  0,25 N, para luego titular el exceso de ácido que no reaccionó con solución de NaOH y fenolftaleína como indicador.



En el método propuesto originalmente, el  $NH_3$  desplazado es primero recogido en una solución saturada (4%) de ácido bórico (Winkler, 1913), y luego titulado por acidimetría con una solución patrón de  $H_2SO_4$  o HCl y verde de bromocresol y rojo de metilo como indicador mixto. El cambio de color es de azul a rosado.



Con el ácido bórico es como si se titulaba directamente el amoníaco producido. Es posible y más práctico, diferir la dosificación por acidimetría y entonces agrupar en el tiempo por una parte las destilaciones, por otra parte las titulaciones.

## Equipos e instrumentos

- Balanza analítica 0,1 mg de precisión.
- Quemadores a gas o bloques calentadores eléctricos regulados a 360°C.
- Balones Kjeldahl de 350 mL Pyrex o tubos para bloques metálicos calentadores.
- Medidas para catalizadores (500 mg, 1 g, 2 g).
- Esferas de vidrio de 6 mm.
- Tapas de lana de vidrio.
- Distribuidor de fracción de Teflón.
- Campana extractora con aperturas para vapores pesados.
- Aparato de destilación por o impulsión de vapor.
- Erlenmeyer de 250 mL Pyrex.
- Bureta de 50 mL más o menos 0,1 mL.
- Agitador magnético con imanes de Teflón.
- Centrifugadora 5000 g y tubos de centrifugación Pyrex de 100 mL.

## Reactivos

- $H_2SO_4$  ácido sulfúrico PA  $d = 1,83$ .
- $H_2SO_4$  ácido sulfúrico PA que contenga 50 g  $L^{-1}$  de ácido salicílico.

- Catalizador: triturar y pasar por tamiz (con el tamiz de 0,125 mm), 100 g de sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ), 20 g de sulfato de cobre ( $Cu(SO_4) \cdot 5H_2O$ ), 2 g de Selenio gris en polvo (Se), homogeneizar y conservar en frasco a cuello amplio.
- Ácido bórico PA ( $H_3BO_3$ ) en solución al 2% en el agua destilada.
- Indicador de Taschiro (Ma y Zuazaga, 1942): mezclar una parte de rojo de metilo al 0,1% en el etanol con tres partes de verde de bromocresol al 0,1% en el etanol; conservar en frasco marrón cuentagotas.
- Solución hidróxido de sodio (NaOH) 10 mol  $L^{-1}$ : pesar 2,5 kg de NaOH PA en granallas y disolver con precaución en 6 litros de agua destilada; dejar enfriarse en frasco Pyrex cerrado ( $CO_2$  se elimina por precipitación de  $Na_2CO_3$ ); trasvasar en frasco Pyrex rechazando el fondo; conservar en frasco fuera de contacto con el aire.
- Fenolftaleína al 1% en el alcohol etílico al 30%.
- Solución patrones ácido sulfúrico 0,1 y 0,05 mol ( $H^+$ ) $L^{-1}$
- Patrón sulfato de amonio ( $NH_4$ ) $_2SO_4$ ; pesar 4,714 g de sulfato de amonio secado sobre  $P_2O_5$  disolver en el agua permutada y traer a un litro; 1mL = 1 mg de N.

### Procedimiento para la mineralización

- Pesar en la balanza de precisión 2 g de suelo molido tamizado < 0,125 mm sobre un papel fino libre de nitrógeno. Se cierra cuidadosamente "en envoltorio de papel".
- Pasar las muestras a balones Kjeldahl de 350 mL de vidrio Pyrex. Mojar el suelo con un mínimo de agua destilada. Agitar suavemente hasta la homogeneización completa del suelo. Dejar en contacto una noche.
- Añadir 20 mL de  $H_2SO_4$  concentrado, con precaución (sobre todo con los suelos calcáreos).
- Añadir una medida de 2 g aproximadamente de catalizador y 3 esferas de vidrio de 6 mm y poner sobre el digestor.
- Regular el gas a llama suave y supervisar la formación de espumas. Los balones Kjeldahl deben inclinarse de 45 a 60°C para limitar los riesgos de proyecciones y permitir un mejor regreso de las condensaciones sobre las paredes inferiores del cuello del balón.
- Cuando la materia orgánica del suelo esta descompuesta, la muestra se decolora, continuar la calefacción y esperar 2 a 3 horas de ebullición sin permitir que la muestra se seque.

### Procedimiento para la destilación y titulación ácido base

- Dejar enfriar. Lavar las paredes del balón con alrededor de 10 mL de agua destilada. Trasvasar la muestra al balón de fondo redondo que se acopla a los destiladores. Añadir 100 mL de hidróxido de sodio 10 mol  $L^{-1}$ . Cerrar el grifo de descompresión y dar paso al vapor.
- Recoger el destilado en 20 mL de ácido bórico al 2% y 3 gotas de indicador de Taschiro cuidando que la extremidad del tubo de salida entre bien en el ácido bórico. El volumen del destilado debe alcanzar 80 mL aproximadamente para una recuperación total.
- Titular con una solución de ácido sulfúrico 0,1 ó 0,05 mol ( $H^+$ ) $L^{-1}$  según el contenido esperado. El cambio de color es del verde al gris tirado a violeta.

### Expresión de resultados

Los resultados de N total se expresan en mg de nitrógeno N por kg de suelo secado a 105°C: 1 mL  $H_2SO_4$  0,1 mol ( $H^+$ )  $l^{-1}$  equivale a 0,1 mmol  $NH_3$  es decir 1,4 mg N. Si  $V_A$  es el volumen de  $H_2SO_4$  0,1

mol (H<sup>+</sup>) L<sup>-1</sup> y P el peso de la muestra de prueba de suelo secado a 105°C, el contenido en N del suelo se expresa por:

$$T_N = \frac{1,4V_A}{P}$$

### Controles

Los controles se efectúan destilando una solución conocida de sulfato de amonio, mineralizada en las mismas condiciones que las muestras en presencia de cuarzo calcinado a 1000°C y una destilación directa de la solución de sulfato de amonio. El blanco reactivo es efectuado por diferencia. Se analizan dos muestras de referencia cada día, así como dos muestras en doble tomado en la serie al azar.

*Nota:* La decoloración no es una señal de final de mineralización, sino un indicador del final de la oxidación de las materias orgánicas húmicas coloreadas que indican el cese de producción de espumas. La conversión de los productos nitrogenados en amonio obedece a otros criterios (temperatura, catalizador, tiempo, naturaleza de los compuestos nitrogenados).

El sulfato de potasio permite aumentar la temperatura de ebullición del ácido sulfúrico (1g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y disminuir el tiempo de ataque necesario. No es necesario sobrepasar 0,5 g por mililitro de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, con el selenio como catalizador para evitar las pérdidas. La temperatura de ebullición de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 330°C sube a 364°C.

*Los catalizadores:* Se puede realizar la sustitución del Se por TiO<sub>2</sub> menos dañino para el medio ambiente (mezcla catalítica: 200 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6 g CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O, 6g TiO<sub>2</sub>). La trituración de las muestras a 125 mesh permite utilizar micrométodos sin notable pérdida de precisión (tipo Parnas y Wagner, 1921), disminuyendo el costo, la contaminación y las superficies necesarias. La utilización de bloques calentadores eléctricos disminuye la turbulencia de los ataques. La posibilidad de programar la calefacción permite conducir el ciclo de mineralización prácticamente sin vigilancia.

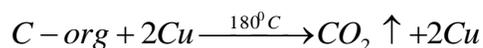
### **Análisis por combustión CHN (OS): vía seca**

Los progresos instrumentales son tales que la compra de equipos de tipo CHN (OS) enteramente automatizados (Pansu, Gautheyrou y Loyer, 1998) presenta una relación calidad/precio muy competitiva. Los laboratorios que realizan numerosos análisis repetitivos pueden amortiguar los materiales muy rápidamente. Presentan la ventaja de realizar un análisis simultáneo de C, N, y de H y en condiciones operatorias adecuadas O y S. Algunos de estos equipos pueden ahora utilizar muestras suficientemente representativas, del orden de sólo 100 mg.<sup>30</sup>

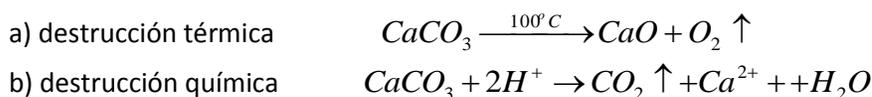
Se introduce un peso preciso, representativo, sellado en una microcápsula de estaño (o de plata), en medio cerrado, en un horno elevado a 1 100°C en presencia de oxígeno y óxido de cobre. Las distintas formas de C y N, orgánicos e inorgánicos se oxidan rápidamente, o se dividen, según el principio de la reacción de Liebig (1830):

---

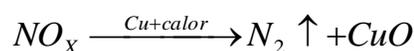
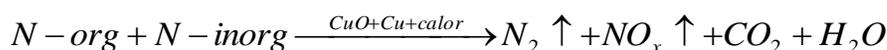
<sup>30</sup> (Analizador Automático Elemental HCN Perkin – Elmer 240 C; Leco CNS – 2000; Leco CHN – 600 y CHN – 800; Carlo Erba Instruments CHNS – O 1108).



Los carbonatos y bicarbonatos son descompuestos simultáneamente, lo que requiere eventualmente su eliminación química antes de la introducción en el horno:



El nitrógeno orgánico, oxidado en la combustión, da óxidos nitrosos que son necesarios reducir según el método de Dumas (1831) con cobre, para hacer pasar todos los óxidos nitrosos en forma de  $N_2$ . Los compuestos de N mineral ( $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ) deben deducirse para obtener N orgánico total. Al final, los productos gaseosos se identifican gracias a detectores convenientes.



### Instrumentación

- Analizador elemental CHN (OS) que permita aceptar muestras de 100mg aproximadamente o superiores.
- Micro balanza analítica.

### Materiales

- Pinza para cerrar las cápsulas.
- Micro pipeta ajustables 0,1 a 0,5 mL.
- Placa de cerámica para tratamiento muestras calcáreas.
- Placa calentadora a temperatura controlada.

### Reactivos

Todos deben ser grado analítico:

- Gases comburentes, gas vector pureza 99,98%.
- Óxido de cobre (CuO).
- Cobre metal en hilo, o virutas (Cu).
- Trampas: perclorato de Magnesio ( $Mg(ClO_4)_2$ ), ascarite (NaOH-Amiante),  $MnO_2$
- Navesilla o cápsulas (estaño, plata) para 100 mg.
- Distintos catalizadores.
- Sustancias patrones de control: acetanilida ( $C_8H_9ON$ , 71,09%C, 6,71%H, 10,36%N, 11,84%O), atropina ( $C_{17}H_{25}NO_3$ ), sulfanilamida  $H_2NC_6H_4SO_2NH_2$ , acide pícrico (2,4,6 trinitrophenol ( $(NO_2)_3C_6H_2OH$ ), thiouréa ( $H_2NCSNH_2$ ).

### Modalidad operativa

- Se efectúan todas las pesadas sobre balanzas analíticas de 0,1 ó 0,01 de mg Calibración: pesar 5 muestras de peso creciente, en la gama de concentración autorizada por el material CHN utilizado. Se pueden así probar el funcionamiento del material y comparar el contenido obtenido y el contenido teórico.
- Muestras: las muestras trituradas a 0,125 mm se conserva 48 horas en un desecante con  $P_2O_5$  para limitar la saturación de las trampas.
- Pesar con precisión en cápsula de estaño o plata, 50 a 100 mg de muestra (según el contenido considerado en C y N) secado sobre  $P_2O_5$  y sellar la cápsula. Colocar directamente en el distribuidor de muestra del aparato CHN. Simultáneamente, pesar 1 g de esta muestra para determinación de la humedad residual a 105°C para corregir los resultados. El secado directo de las muestras a 105°C puede aumentar la fijación de  $NH_4^+$  en las redes arcillosas 2:1, pero este error sistemático puede admitirse en este método.

### **Hidrógeno, oxígeno y azufre**

El hidrógeno se determina simultáneamente al carbono y al nitrógeno, por medio del agua formada en la combustión. Sin embargo esta medida es difícil de interpretar en la mayoría de los suelos ya que no se separa el hidrógeno de la combustión de las moléculas orgánicas y aquella procedente de las distintas formas de agua de hidratación, absorción y constitución.

La dosificación del oxígeno y el azufre es generalmente realizable con el mismo equipo que para C y N con modificación de los parámetros instrumentales. Para el azufre se utiliza una oxidación proporcionada, generalmente en presencia de anhídrido túngstico. Para el oxígeno, se opera por pirolisis en vez de operar por combustión (corte de la alimentación en oxígeno) sobre una toma de prueba reservada a esta dosificación.

### **CHNOS por los métodos de análisis térmico**

No se puede omitir, para estudios detallados, las posibilidades ofrecidas por los métodos instrumentales como el análisis térmico diferencial (ATD) y el análisis termogravimétrico (ATG) simultáneo, acoplados a periféricos de medida de los gases desprendidos (EGA).

Controladas las pirolisis, con programas de calentamiento adaptados (temperatura - tiempo), permiten seguir la oxidación de la materia orgánica y la descomposición de los compuestos mineral. Es posible determinar y cuantificar la naturaleza de los gases que corresponden a los picos ATD observados y a las pérdidas de peso [ $CO_2$ , CO,  $CH_4$ ,  $H_2O$ ,  $NH_3$ ,  $SH_2$ ,  $SO_2$ ] en función de la temperatura, de seguir la descomposición, o las transformaciones de los productos conteniendo C y N, descomponiendo los picos exo y endotérmicos correspondiente a  $H_2O$  y  $CO_2$ .

### Análisis simultáneo de los distintos isótopos del C y del N

Los analizadores CHN (OS) por vía seca pueden acoplarse a espectrómetros de masa que permiten el estudio de los distintos isótopos de los elementos medidos, especialmente  $^{14}C$ ,  $^{13}C$ ,  $^{15}N$  (Pansu, Gautheyrou y Loyer, 1998). El  $^{15}N$  también a menudo se determina a partir de los destilados

Kjeldahl en forma de amonio. El gas carbónico de los efluentes gaseosos de combustión puede también atraparse para una determinación posterior de los isótopos presentes  $^{13}\text{C}$  y  $^{14}\text{C}$ .

A continuación se encontrarán las referencias a las publicaciones especializadas que permiten elegir los itinerarios técnicos apropiados e instalar el material correspondiente a las necesidades de cada laboratorio.

## **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

Pansu, M., J. Gautheyrou y J. Y. Loyer. 1998. L'analyse du sol : Échantillonnage, instrumentation et controle. Ed. Masson, Paris.

## **BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA SOBRE EL ANÁLISIS DE LOS CONSTITUYENTES ORGÁNICOS C, H, N, O, S**

Anne, P. 1945. Sur le dosage du carbone organique des sols *Ann. Agron.*, 15, 161-172.

Baker, K. F. 1976. The determination of organic carbon in soil using a probe colorimeter. *Lab. Practice*, 25, 82-83.

Bal, D. V. 1925. The determination of nitrogen in heavy clay soils. *J. Agric. Sci.*, 15, 454-459.

Berthelot, M. P. 1859. Violet d'amiline. *Répertoire chim. appl.*, 1, 284.

Bolleter, W. T., C. J. Bushman, y P. W. Tidwell. 1961. Spectrophotometric determination of ammonia as indophénol. *Anal. Chem.*, 33, 542-594.

Bottner, P. y F. Warembourg. 1976. Method for simultaneous measurement of total and radioactive carbon in soils, soil extracts and plant materials, *Plant and soil*, 45, 273-277.

Bremner, J. M. y C. S. Mulvaney. 1982. Nitrogen total. In *Methods of soil analysis- part 2. Chemical and microbiological proprieties*. ASA-SSSA, 9, 595-624.

Buurmans, P., B. van Lager y F. J. Velthorst. 1996. *Manual for soil and water analysis*. Backhuis Publishers, Leiden, 17-21.

Cremers, D. A., M. H. Ebinger, D. D. Breashears, P. J. Uukefer, S. A. Kammerdiener, M. J. Ferris, K. M. Catlett y J. R. Brown. 2001. Measuring Total Soil Carbon with Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). *J. Environ. Qual.*, 30, 2202-2206.

Cremers, D. A., M. J. Ferris y D. Davies. 1996. Transportable Induced Laser Breakdown Spectroscopy (LIBS) instrument for field-based soil analysis. *Proc. Soc. Photo Opt. Instrum. Eng.*, 2835, 190-200.

Dalal, R. C. y R. J. Henry. 1986. Simultaneous détermination of moisture, organic carbon and total nitrogen by near infrared reflectance spectrométry. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50, 120-123.

Du Preez, D. R. y G. C. Bate. 1989. A simple méhod for the quantitative recovery of nitrate N during Kjeldahl analysis of dry soil and plant samples. *Commun. Soil Sci. Plant anal.*, 20, 345-357.

Fidêncio, P. H., R. J. Poppi y J. C. de Andrade. 2002. Determination of Organic Matter in Soils using function networks and near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 453, 125-134.

Fuson, R. C. 1962. Reactions of organic compounds - A text book for the advanced student. John Wiley and Sons, 1962.

Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1965. Dosage simultané de l'azote ammoniacal et nitrique dans le sols. Contribution à l'étude de la dynamique de l'azote. *Cah. Orstom Sér. Pédol.*, III, 367-391.

Keerrthisinghe, G. K., K. Mengel y S. K. De Datta. 1984. The release of non-échangeable ammonium ( $^{15}\text{N}$  Labelled ) in wetland rice soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 291-294.

- Kjeldahl, J. 1883. Neue méthode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Z. Anal. Chem.* 22, 366-382.
- Krishnan, P., J. D. Alexander, B. J. Butler y J. W. Hummel. 1980. Reflectance techniques for predicting soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 1282-1285.
- Laurent, J. Y. 1990. Analyse élémentaire d'échantillons de sol et solutions : application de la microanalyse au dosage simultané de l'azote, du carbone et du soufre. In *Actes Journées laboratoire*, Orstom, Bondy, France.
- Ma, T. S. y G. Zuazaga. 1942. Micro - Kjeldahl determination of nitrogen. A new indicator and an improved rapid method. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, 14, 280-282.
- Markham, R. 1942. A steam distillation apparatus suitable for micro - Kjeldahl analysis. *Biochem. J.*, 36, 790-791.
- Mebius, L. J. 1960. A rapid method for the determination of organic carbon in soil. *Anal. Chem. Acta*, 22, 120-124
- Pansu, M. y J. Gautheyrou. 2003. L'analyse du sol, minéralogique, organique, minérale Masson Ed. 993 p., ISBN 2-287-59774-3 IRD Montpellier, France

## FORMAS MINERALIZABLES DEL NITRÓGENO Y DEL CARBONO

### Introducción

El nitrógeno de la biósfera representa una cantidad muy escasa delante del nitrógeno atmosférico y desdeñable con relación al nitrógeno total del planeta. Sin embargo, para el fisiólogo o el agrónomo, el nitrógeno constituye una de las principales fuentes de vida al lado del carbono, el hidrógeno y el oxígeno. En el Cuadro AA14 se presenta la distribución geoquímica del nitrógeno en la Tierra.

Cuadro AA14. Distribución geoquímica del nitrógeno según Stevenson (1982c)

Localización	Peso N (Toneladas)
Litósfera	$1636 \cdot 10^{14}$
Atmósfera	$38,6 \cdot 10^{14}$
Biósfera	$0,0028 \cdot 10^{14}$
Materia orgánica de los suelos	$0,0022 \cdot 10^{14}$
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> fijado por arcillas	$0,0002 \cdot 10^{14}$

El conocimiento preciso de las reservas del suelo en nitrógeno orgánico es de un interés primordial para prever las posibilidades de suministro de nitratos y crecimiento de las plantas. La medida de la cantidad total de nitrógeno orgánico o la de las existencias de nitrógeno mineral al inicio de un cultivo son referencias utilizadas por el agrónomo para determinar la cantidad de fertilizante que debe aportarse (Dahnke y Johnson, 1990). Si embargo, estos dos "índices" no son muy representativos del ciclo real del nitrógeno y no pueden constituir sino meras aproximaciones.

En efecto, la cantidad de nitrato o amonio presente en un suelo a un momento dado, no indica nada del balance:

$$MN = MB - OB - \text{pérdidas}$$

donde:  $MN$  = mineralización neta,  $MB$  = mineralización bruta y  $OB$  = organización bruta

Entre las sustancias constitutivas del nitrógeno orgánico (Schulten y Schnitzer, 1998), existen enormes diferencias de estabilidad, la mayoría de los procesos de humificación requieren un consumo de nitrógeno mineral que viene a competir con la planta. Los riesgos económicos y ecológicos que resultan de enmiendas nitrogenadas irracionales (lixiviación de los nitratos y contaminación de las aguas, retrogradación del amonio en las arcillas) exigen un mejor conocimiento del ciclo del nitrógeno y, especialmente, de las formas del nitrógeno orgánico que representan la reserva potencial de nitrógeno asimilable de los suelos.

### **Métodos de determinación de las formas de nitrógeno de los suelos**

Se realizaron durante el siglo pasado numerosas investigaciones relativas al nitrógeno orgánico de los suelos, que se pueden clasificar esquemáticamente en dos principales grupos:

El primer tipo de trabajos pretende generalmente determinar las formas del nitrógeno presentes en solución después de hidrólisis ácidas, destinadas a romper las grandes moléculas orgánicas. Las determinaciones más clásicas de estas formas son citadas en la bibliografía, pero no se van a comentar aquí por no tener aplicaciones agronómicas simples y directas salvo, tal vez, en el caso de la urea cuya determinación puede ser a veces útil en el control de la fertilización de suelos cultivados.

El segundo tipo de trabajos utiliza dos tipos de enfoque para determinar el nitrógeno orgánico potencialmente mineralizable del suelo:

- un enfoque biológico: estimación del nitrógeno de la biomasa microbiana y del nitrógeno mineral producido por incubaciones en condiciones controladas;
- distintas técnicas de extracción destinadas a diferenciar categorías de moléculas nitrogenadas.

Por último, conviene citar el método de extracción por electro-ultrafiltración y las principales técnicas bioquímicas de caracterización de las formas del nitrógeno definidas por hidrólisis ácida. Las técnicas isotópicas que utilizan el marcador isotópico  $^{15}\text{N}$  constituyen también una herramienta potente de estudio de las transferencias de nitrógeno entre compartimentos orgánicos y mineral (Guiraud, 1984; Chotte, 1986; Sallih, 1990). Los métodos citados pueden casi siempre acoplarse a dosificaciones del nitrógeno marcado por  $^{15}\text{N}$ .

#### Valoración de la urea

El uso de la urea como fertilizante nitrogenado es importante sobre todas las tierras cultivadas del mundo (Beaton, 1978). Por eso, es necesario disponer de métodos analíticos fiables para seguir su evolución por el suelo.

El método inicial de Douglas y Bremner fue modificado ligeramente a continuación por Mulvaney y Bremner (1979), y es ésta técnica que figura a continuación. Es posible automatizar la parte dosificación de las soluciones sobre un colorímetro automático como ya fue realizado por Douglas *et al.* (1977).

## *Reactivos*

- Solución de acetato de fenylmercurio (AFM): disolver 50 mg de AFM; en 1 litro de agua bidestilada.
- Solución de cloruro de potasio - acetato de fenylmercurio (2M KCl-APM): disolver 1 500 g de KCl en 9 L de agua y agregar 1 L de solución APM.
- Solución de diacetyl monoxima (DAM: disolver 2,5 g de DAM en 100 mL de agua.
- Solución de tiosemicarbazida (TSC: disolver 0,25 g de TSC en 100 mL de agua.
- Reactivo ácido: añadir 40 mL de ácido sulfúrico concentrado a 1 L de solución de ácido fosfórico al 85% en peso, diluir la mezcla a 2 L con agua (ácido en el agua) con una buena agitación.
- Reactivo colorante: mezclar 50 mL de solución DAM con 30 mL de solución TSC y diluir la mezcla a 1 L con el reactivo ácido; este reactivo no se conserva y debe prepararse inmediatamente antes de la utilización.
- Solución normal N - Urea: disolver 0,4288 g de urea pura y seca en la solución KCl-APM, ajustar el volumen a 2 L con la misma solución y agitar bien. Esta solución contiene 100 g N - Urea por mL. Almacenar en el refrigerador.

## *Método*

- Colocar 5 g de suelo en un frasco de 100 mL y añadir 50 mL de solución 2M - KCl - APM. Tapar la botella, agitar 1 hora y filtrar (papel filtro Whatman N° 42).
- Tomar un alícuota del extracto (1-10 mL) que contiene entre 10 y 100 µg de N-urea en un frasco medido de 50 mL. Complementar a 10 mL con la solución 2M-KCl-APM y añadir 30 mL de reactivo colorante.
- Agitar el frasco rápidamente para homogeneizar los componentes y luego introducirlo en un baño de maria regulado aproximadamente a 85°C durante 30 minutos, enfriar 10 minutos en agua fría (12-15°C), llevar el volumen a 50 mL con agua y agitar.
- Medir la Absorbancia en el espectrofotómetro a 527 nm; si no se dispone de aparato equipado de un monocromador, se puede utilizar un filtro verde. La concentración se calcula en comparación con una gama de calibración 0, 10, 50, 100 µg N- Urea.
- Para preparar esta gama, diluir 20 mL de solución normal N- Urea en un frasco medido de 200 mL con la solución 2 M-KCl-APM y agitar bien.
- Muestrear alícuotas de esta solución de 0, 1, 5,10 mL en frascos medidos de 50 mL.
- Completar el volumen a 10 mL con la solución 2 M-KCl-APM y operar como para los extractos de suelo.
- Realizar una calibración para cada serie de análisis.

## *Nitrógeno potencialmente mineralizable: métodos biológicos*

Se trata de determinar la capacidad de un suelo para proporcionar nitrógeno mineral para la alimentación de las plantas. Según los casos, se hablará de determinaciones: de la mineralización neta, de índices de disponibilidad del nitrógeno, de nitrógeno potencialmente mineralizable, de potencial de mineralización, entre otros.

Los métodos biológicos tienden a simular "in vitro" la evolución de los suelos en condiciones naturales. Consisten en medir el nitrógeno mineral producido en una muestra de suelo después de un determinado tiempo de incubación en condiciones controladas.

La aplicación de estos métodos parece pues bastante simple, pero en realidad son muy numerosas las alternativas propuestas por distintos autores. Keeney (1982) contabiliza 29 métodos diferentes y protocolos de incubación probados en relación con medidas de consumo de nitrógeno por distintos tipos de planta.

### Método de la cinética de primer orden

El más citado de estos métodos es el de Stanford y Smith (1972). Se basa en el concepto de descomposición de un grupo de nitrógeno orgánico mineralizable según una cinética de primer orden. Durante un intervalo de tiempo  $dt$ , la variación de contenido en nitrógeno orgánico  $dN$  puede expresarse en función del constante de velocidad de mineralización  $k$  por:

$$-\frac{dN}{dt} = kN$$

Por separación de variables e integración entre  $NOM_0$  (la cantidad de nitrógeno orgánico potencialmente mineralizable al tiempo 0) y  $NOM_t$  (la cantidad de nitrógeno orgánico potencialmente mineralizable al tiempo  $t$ ) se obtiene:

$$-\int_{NOM_0}^{NOM_t} \frac{dN}{N} = \int_{t=0}^t k dt = kt$$

$$\log(NOM_t) = \log(NOM_0) - \frac{k}{2,303} \times t \quad \Leftrightarrow \quad NOM_t = NOM_0 \times 10^{\frac{-k \times t}{2,303}}$$

$NOT$  = nitrógeno orgánico total del suelo,

$NOM$  = nitrógeno orgánico mineralizable del suelo,

$NOM_0$  = nitrógeno orgánico potencialmente mineralizable al tiempo  $t=0$ ,

$NOM_t$  = nitrógeno orgánico mineralizable al tiempo  $t$ ,

$N_m$  = nitrógeno mineral actual del suelo ( $NH_4^+ + NO_3^- + NO_2^-$ ),

$k$  = constante de velocidad (proporción de nitrógeno orgánico mineralizado durante el intervalo de tiempo  $dt$ ).

Por otra parte, si se deduce el nitrógeno mineral preexistente en el suelo,  $N_m$ , el balance del nitrógeno se escribe:

$$NOM_0 = NOM_t + N_m \quad \Rightarrow \quad N_m = NOM_0 - NOM_t$$

La evolución  $N_m$  de nitrógeno mineral se escribe pues según las ecuaciones:

$$N_m = NOM_0 \left( 1 - 10^{\frac{-k \times t}{2,303}} \right)$$

La técnica consiste en medir el nitrógeno mineral que se produce a distintas duraciones de incubación y graficar los valores acumulados en función del tiempo. Por ajuste de los datos a la última ecuación se obtiene simultáneamente una estimación del nitrógeno potencialmente mineralizable,  $NOM$ , y de la velocidad de mineralización  $k$  (Figura AA7). Se propusieron distintos tipos de ajuste. Stanford y Smith (1972) observaban inicialmente ajustes lineales del nitrógeno mineral acumulado en función de la raíz cuadrada del tiempo de incubación. Para el cálculo del nitrógeno potencialmente mineralizable y de la velocidad de mineralización, utilizaron un cálculo de regresión lineal.

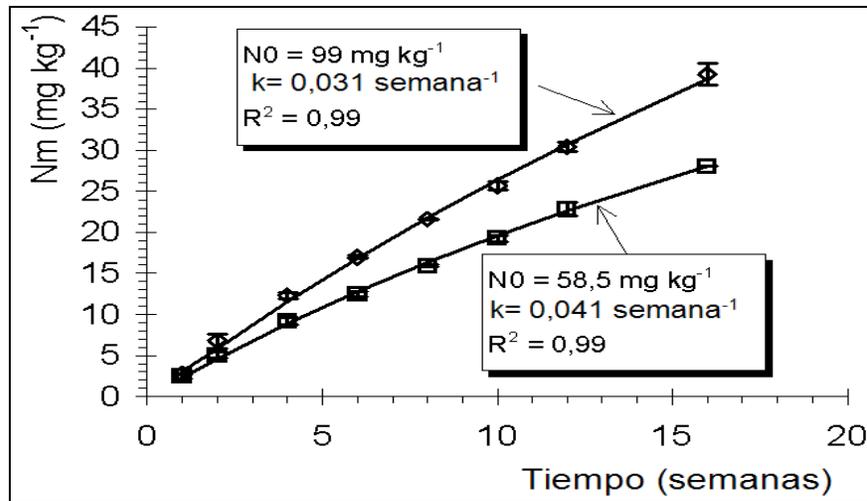


Figura AA7. Valores observados y ajustados por Rachid Fahd (1990) del nitrógeno mineralizado acumulado, en función del tiempo de incubación, según la técnica de Stanford y Smith (1972): C = suelo colluvial neutro, A = suelo aluvial calcáreo, muestras conservadas en frío 50 días antes de la incubación.

Al fijar un valor de  $NOM_0$  en la parte izquierda de la ecuación, un ajuste lineal entre las variables registro ( $NOM_0 - Nm$ ) y  $t$ , permite considerar un valor de  $k$ . El protocolo modelo Stanford y Smith no es más que una simulación bastante gruesa de los procesos que se producen en condiciones naturales. Es criticable en particular sobre dos principales aspectos:

- no reproduce el ciclo del nitrógeno puesto que la extracción continua del nitrógeno mineral favorece la reacción en el sentido mineralización-nitrificación y borra los procesos de ammonificación, reorganización, desnitrificación; esto es favorable a una estimación exagerada del potencial de nitrógeno mineralizable del suelo pero no permite considerar los nitratos realmente disponibles para la planta a un momento dado;
- la lixiviación por la solución  $0,01 \text{ mol } (\text{CaCl}_2)\text{L}^{-1}$  implica la lixiviación del nitrógeno orgánico soluble que habría podido mineralizarse posteriormente (Robertson *et al.*, 1988) y se subestimaría por lo tanto, el nitrógeno mineralizable.

Además la duración de las experiencias puede constituir un freno a su aplicación. Esta es la razón por la que la determinación del nitrógeno potencialmente mineralizable por técnicas más rápidas fue objeto muy de numerosas propuestas, que se trate de métodos biológicos más rápidos, o de los métodos por extracciones químicas.

## ***Cinéticas de mineralización conjuntas C y N***

Los métodos de determinación del nitrógeno potencialmente mineralizable proporcionan un potencial máximo de fertilidad nitrogenada, pero son distantes del ciclo real del nitrógeno que es muy vinculado al del carbono (Pansu *et al.*, 1998). Los estudios cinéticos consisten en medir simultáneamente la mineralización del carbono y el nitrógeno en condiciones naturales son mas confiables en particular si se realizan en presencia de material vegetal marcado  $^{14}\text{C}$  o  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  (Bottner *et al.*, 2000). El método de laboratorio fue adaptado y utilizado por el centro IRD de Montpellier (Thuriès *et al.*, 2000). El protocolo puede variar en lo que se refiere a las duraciones de incubación.

### **Materiales a utilizar**

- Estufa bacteriológica de gran volumen ajustable a  $\pm 0,3^\circ\text{C}$  de la temperatura elegida, aquí  $28^\circ\text{C}$ .
- Potes de conserva alimentaria en vidrio a empaque de goma de 1,2 L.
- Soportes plásticos de 12 cm de altura recortados en un tubo PVC  $\varnothing$  8 cm taladrado de agujeros y cruzado por dos hilos cruzados como apoyo de potes a un lado.
- Cajas cilíndricas polipropileno 50 mL  $\varnothing$  5 cm.
- Cajas Nalgéne 60 mL de tapa atornillada.
- Desecante surtido de cal o barita (absorción  $\text{CO}_2$  atmosférica).
- Autovalorador proveído de un vaso de titulación bajo corriente de nitrógeno aislando del aire ambiente.
- Distribuidor de volumen preciso de 20 mL de solución sódica con trampa de  $\text{CO}_2$  sobre la botella (pelotillas NaOH).
- Materiales para dosificación del N mineral.

La cinética de evolución de los compartimentos inestables, se puede apreciar en una duración de un mes o incluso menos. Para apreciar la evolución de compartimentos más estables, el tiempo de incubación debe ser superior a 100 días (Blet-Charaudeau *et al.*, 1990) y hasta de 6 meses. La sobrecarga de trabajo inducida por medidas de larga duración no constituye una grande desventaja ya que se calcula el muestreo de manera logarítmica en función del tiempo. Por lo tanto, las muestras son numerosas a principio, pero pocas en final de incubación.

### **Reactivos**

- Solución titulada comercial NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ : diluir una dosis de solución titulada comercial NaOH  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  en un frasco medido de 2 L, ajustar el volumen y homogenizar; almacenar en la botella del distribuidor de volumen proveída de una trampa fijada en el tapón y que contiene pelotillas de soda;
- Solución titulada comercial HCl  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ : diluir una dosis de solución titulada comercial HCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  en un frasco medido de 2 L, ajustar el volumen y homogenizar.
- Solución de cloruro de bario a del %, disolver 200 g  $\text{BaCl}_2$  en 800 mL de agua, agitar y ajustar a 1 L, filtrar sobre papel filtra final si la solución es turbia;
- Productos para la extracción (solución M KCl o  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) y la dosificación de las formas mineral del nitrógeno.

### Protocolo de incubación

- Determinar la capacidad máxima de retención (CMR en  $\text{g kg}^{-1}$ ) en agua, y la humedad actual (H en  $\text{g kg}^{-1}$ ) del suelo.
- Calcular el peso de agua PA que añadir a la muestra PS (en g, aquí 25 g) suelo, o sea:  
 $\text{PE} = 0,75 (\text{CMR}-\text{H}) \text{PS}/1000$ .
- Prever el plan de muestreo para la mineralización C y N en función del tiempo t (días).
- Pesarse en las cajas polipropileno el número de muestras de 25 g de suelo elegido, teniendo en cuenta que las medidas sobre el nitrógeno son destructivas, las medidas sobre el carbono no son destructivas para la muestra.
- Prever 3 repeticiones por muestreo.

Pesarse en hojas de aluminio el material orgánico que debe añadirse eventualmente (MOA, tejidos aéreos o raíces por ejemplo previamente secado y preparado a la granulometría elegida) a las muestras de suelo, en función de los valores C/N de estas materias orgánicas (Cuadro AA15).

Doblar cuidadosamente estas muestras, identificarlas y conservar al refrigerador. Para poder observar la cinética de mineralización de los MOA, siempre prever muestras de suelos sin adición (testigos). Para las pruebas de respirometría del suelo, prever pruebas a blanco sin muestra de suelo en el pote. El día de comienzo de la prueba, humedecer las muestras de suelo sobre la balanza con un peso de agua  $< \text{PE}$ , añadir el material orgánico (aquí llamado MOA), homogeneizar cuidadosamente con una espátula y terminar el humedecimiento sobre la balanza con el peso de agua PE y medir el peso total Pt de la muestra humedecida.

Terminar la homogeneización. Poner las muestras en la estufa bacteriológica regulada a la temperatura elegida ( $28^{\circ}\text{C}$  por ejemplo). La mayoría de las cajas muestras se coloca en cubos plásticos cubiertas de una hoja de plástico perforado por alfiler (paso del aire pero retención de la humedad de las muestras). Sólo las muestras previstas para el muestreo del tiempo  $t = x$  (1, 2, 3,...n; ver Cuadro AA6) se introducen en los potes de incubación para no saturar las trampas de  $\text{CO}_2$  (Figura AA8). Introducir también en cada caja Nalgéne con 20 mL de solución NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . Tapar cuidadosamente y dejar en la estufa.

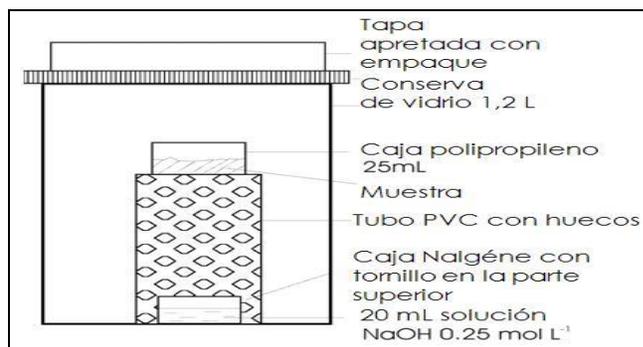


Figura AA8. Elemento de incubación para respirometría del suelo y cinética de mineralización de Carbono y Nitrógeno.

Al tiempo  $t = x$ , sacar las muestras de los potes, conservarlos al congelador para dosificación de nitrógeno mineral, sacar las cajas Nalgéne conteniendo la soda, taparlas y conservarlas al desecante sobre cal o barita. Rellenar los potes con nuevas cajas Nalgéne con 20 mL de solución NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  y repetir las mismas operaciones para cada día de muestreo N (Cuadro AA15). Sólo para los días

del muestreo C, cambiar la solución de soda y volver a poner a incubar con la misma muestra. Cada cinco días, reajustar sobre la balanza la humedad de cada muestra al peso inicial Pt.

Cuadro AA15. Tomas de prueba recomendadas para estudio de mineralización de materias orgánicas añadidas al suelo.

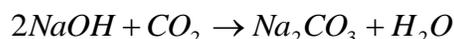
Materia orgánica añadida (MOA)	C/N de MOA	Peso MOA
Abono mineral órgano, abono orgánico	< 5	75 a 125 mg
Abono orgánico	5-15	250 mg
Enmienda orgánica, residuo pobre de cosecha	> 15	500 mg o +

### Valoración

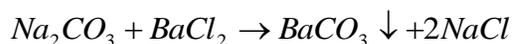
- Para el carbono mineralizado:
- calibrar el titulador automático por medio de soluciones tampón a pH 4 y 7; seleccionar el programa de titulación sin adición inicial, detección en punto final fijado de pH = 8,6, velocidad de adición bastante baja.
- transferir rápidamente el contenido de una muestra de soda carbonatada en el vaso de titulación que contiene una pequeña barra magnetica, añadir 5 mL solución BaCl<sub>2</sub>.
- poner en marcha un burbujeo moderado de nitrógeno en la solución, introducir el electrodo de pH y la llegada de ácido.
- empezar la dosificación, esperar la parada automática de la titulación y leer el volumen en mL: o sea V<sub>e</sub> para la muestra, V<sub>t</sub> para el testigo (sólo suelo para cinética de mineralización de la materia orgánica añadida MOA), y V<sub>b</sub> para la prueba a blanco (respirometría endógena sólo del suelo).

### Cálculos

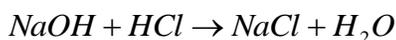
La respiración microbiana en los potes de incubación genera una carbonatación de la soda según la reacción:



El carbonato formado es precipitado por BaCl<sub>2</sub> según:



El HCl neutraliza la soda en exceso:



Si al principio se tiene  $n$  moles de soda que son carbonatadas, a continuación por  $x$  moles de CO<sub>2</sub>, permanece en la muestra  $(n - 2x)$  moles de soda. La dosificación de la prueba a blanco (respirometría) o testigo (cinética MOA) se refiere a  $n$  moles de soda, por lo tanto el CO<sub>2</sub> respirado se obtiene por:  $[n - (n - 2x)] = 2x$  y, si  $T_a$  es el título del ácido (mol L<sup>-1</sup>), el CO<sub>2</sub> (o C) procediendo de la muestra se expresa en millimoles por:

$$x = \frac{V_b - V_e}{2} \times T_a \quad \text{Para la respiración del suelo}$$

$$x = \frac{V_b - V_t}{2} \times T_a \quad \text{Para la cinética MOA}$$

Ver Thuriès *et al.* (2001) y Thuriès *et al.* (2002) para la expresión más completa de estos resultados y la modelización de la cinética de mineralización.

### Observaciones

Para que la respiración de los microorganismos no sea limitada, el contenido en oxígeno no debe bajar más del tercio del valor inicial. La disposición elegida en los potes de incubación se debe al hecho que el CO<sub>2</sub> es más pesado que el aire. Es entonces lógico colocar la muestra por encima de la trampa de soda.

### **Biomasa microbiana**

La interpretación del funcionamiento del sistema suelo-solución y “a fortiori” del sistema suelo-solución-planta implica obligatoriamente un mejor conocimiento de las actividades microbianas del suelo. Hasta ahora este conocimiento queda todavía muy limitado a una estimación global y cuantitativa de las actividades respiratorias para el carbono o mineralizadoras para el nitrógeno. Pero, para poder llegar a un conocimiento más cualitativo de las diversas funciones de las poblaciones microbianas es indispensable desarrollar las evaluaciones que están al alcance de cualquier laboratorio de análisis de suelo con un equipamiento mínimo.

### Método de fumigación-extracción

El C y el N de la biomasa microbiana se determinan por el método de fumigación-extracción de Amato y Ladd (1988). Se introducen 3 réplicas de suelo húmedo, a la capacidad de campo correspondientes a 50 g de suelo seco cada una, en un desecador y se mantienen en un ambiente saturado con cloroformo (previamente purificado a través de una columna de alúmina) durante un periodo de 10 días, a una temperatura de 25 a 28°C. Transcurrido este tiempo, se sacan las muestras y se procede inmediatamente a la extracción del N mineral con KCl 2 N.

### *Extracción con KCl*

Se agita la cantidad necesaria de suelo fresco, fumigado y no fumigado (3 réplicas de cada uno), correspondiente a 50 g de suelo seco, con 150 mL de KCl 2 N durante una hora; se centrifuga durante 15 min a 2.000 rpm y se filtra el extracto con un filtro milipore de 0,2 µm.

La extracción con KCl del suelo no fumigado se realiza el mismo día que se inicia la fumigación.

### *N y C de la biomasa microbiana*

A una alícuota de 1 mL del extracto precedente, se añade 1 mL de solución de ninhidrina, con una concentración de 3 g L<sup>-1</sup> y 0,25 mL de un tampón (mezcla de ácido acético con acetato sódico) a pH 5,5 y a continuación se coloca la suspensión en baño de María a ebullición, durante 15 min. Después de enfriar, se le añade 13 mL de etanol al 50 % para llevar el volumen total a 15 mL.

Se mide la densidad óptica a 570 nm y se determina la concentración en N mediante una curva patrón de NH<sub>4</sub>Cl, preparada en las mismas condiciones.

El N de la biomasa se calcula multiplicando la diferencia entre el N de las muestras fumigada y no fumigada, por un coeficiente de 3,1 (Amato y Ladd, 1988). Para calcular el C de la biomasa se multiplicó el N valorado con la solución de ninhidrina por el coeficiente 21 (Amato y Ladd 1988), considerando una relación C/N para la biomasa microbiana de 6,7.

### *Medida del exceso isotópico del N de la biomasa microbiana (ver en el Capítulo 1 del presente Referencial las definiciones correspondientes al uso de los trazadores isotópicos)*

Si se trata de un experimento incluyendo el marcado por <sup>15</sup>N se realiza la digestión de 130 mL del extracto de KCl con 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, después de mantenerlo durante una noche con 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluido en 50 mL de agua y en presencia de 2 g de Fe en polvo para la reducción de los nitratos.

Se destila el N por arrastre de vapor y luego se valora con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 N. El destilado se acidifica con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025 N, se lleva a sequedad y el residuo se utilizó para la medida del exceso isotópico.

Del mismo modo que para el N total, se determina el contenido de <sup>15</sup>N de la biomasa por diferencia entre la muestra sin fumigar y la muestra fumigada. El cálculo que sirve para determinar, por diferencia entre los resultados del día 0 y del día 10, el exceso isotópico de la biomasa microbiana es el siguiente:

$$\% E = \frac{[(^{15}N)_{d10} - (^{15}N)_{d0}]}{\{[(N)_{d10} - (N)_{d0}] - 0,366\}} \times 100$$

Donde (<sup>15</sup>N) = cantidad de <sup>15</sup>N y (N) = cantidad de N total de la biomasa y el término 0,366 = la tasa natural del isótopo <sup>15</sup>N en la atmósfera.

### **C y N de la microbiota ligada a los agregados del suelo de diferentes tamaños**

En muchos casos los experimentos de campo incluyen la gestión del estatus orgánico de los suelos cultivados por ejemplo en el caso de cultivos con labranza mínima, del seguimiento de las parcelas en barbecho o de las alternancias cultivos/pastos. En estos casos, puede ser importante conocer la repartición de las actividades microbianas en relación al tamaño de los agregados.

Para ello, una muestra de suelo fresco, correspondiente a 50 g de suelo seco, se dispersa en agua, en relación 1:3, agitándola durante 16 horas en presencia de cinco bolas de vidrio de 8 mm de diámetro y 780 mg de peso cada una. La suspensión se tamiza con un tamiz de 50 µm y se recoge la fracción mayor de 50 µm.

El resto de la suspensión se centrifuga a 2.000 rpm, durante aproximadamente 5 min en función de la temperatura, recogiendo el depósito que contenía los agregados de tamaño

comprendido entre 50  $\mu\text{m}$  y 2  $\mu\text{m}$ . Al sobrenadante se añaden 10 mL de  $\text{CaCl}_2$  2 M por litro de suspensión, como floculante. El floculado, que contiene los agregados inferiores a 2  $\mu\text{m}$ , se lleva a un volumen conocido. De las tres fracciones, se toman 3 alícuotas apropiadas para la determinación del peso seco y del C y N de la biomasa microbiana de cada fracción, por el método descrito anteriormente.

En el caso de la fracción inferior a 2  $\mu\text{m}$ , se toman alícuotas de 15 mL que se vuelven a flocular para obtener el residuo sólido que se mezcla luego con arena para la fumigación.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Amato, M. y J. M. Ladd. 1988. Assay for Microbial Biomass based on Ninhydrin-Reactive Nitrogen. In *Extracts of Fumigated Soils. Soil Biol. Biochem.* 20: 107-114.
- Beaton, J. D. 1978. Urea-its popularity grows as a dry source of nitrogen. *Crops Soils*, 30, 11-14.
- Blet-Charaudeau, C., J. Muller y H. Laudelout. 1990. Kinetics of carbon dioxide evolution in relation to microbial biomass and temperature. *Soil Science Society of America Journal* 54, 1324-1328.
- Bottner, P., M. N. Coûteaux, J. M. Anderson, B. Berg, G. Billès, T. Bolger, H. Casabianca, J. Romanya y P. Rovira. 2000. Decomposition of  $^{13}\text{C}$  labelled plant material in a European 65-40° latitudinal transect of coniferous forest soils: simulation of climate change by translocation of soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 32, 527-543.
- Chotte, J. L. 1986. Evolution d'une biomasse racinaire doublement marquée ( $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) dans un système sol-plante : étude sur un cycle annuel d'une culture de maïs. Thèse Doctor. Univ. Nancy I, 116 p. más anexos.
- Dahnke, W. C. y G. V. Johnson. 1990. Testing soils for available nitrogen. In *soil testing and plant analysis*, 3rd. ed. SSSA book series, n°3, 127-139
- Douglas, L. A., H. Sochtig y W. Flaig. 1977. Colorimetric determination of urea in soil extracts using an automated system. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42, 291-292.
- Fahd-Rachid. 1990. *Mise au point méthodologique sur l'estimation de l'azote organique potentiellement minéralisable dans le sol*. DEA INP-ENSAT Toulouse, Document ORSTOM-Montpellier N° 1, 60 p. multig.
- Guiraud, G. 1984. Contribution du marquage isotopique à l'évaluation des transferts d'azote entre les compartiments organiques et minéraux dans les systèmes sol-plante. Thèse Doct. en Sciences, Paris 6, 335 p.
- Keeney, D. R. 1982. Nitrogen-Availability indices. In *Methods of soil analysis, Part 2*, Page AL et al. ed. ASA-SSSA N°9 part 2, 2nd edition, 711-733.
- Mulvaney, R. L. y J. M. Bremner. 1979. A modified diacetyl monoxime method for colorimetric determination of urea in soil extracts. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.*, 10, 1163-1170.
- Pansu, M., Z. Sallih y P. Bottner. 1998. Modelling of soil nitrogen forms after organic amendments under controlled conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 30, 19-29.
- Robertson, K., J. Schnürer, M. Clarholm, T. A. Bonde y T. Rosswall. 1988. Microbial biomass in relation to C and N mineralization during laboratory incubations. *Soil Biol. Biochem.*, 20, 281-286.
- Sallih, Z. 1990. Relation entre activité rhizosphérique et décomposition de la matière organique des sols au niveau de la biomasse microbienne et de la minéralisation du carbone et de l'azote. Thèse Doct. Univ. Montpellier II, 155 p.
- Schulten, H. R. y M. Schnitzer. 1998. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biol. Fertil. Soils*, 26, 1-15.

- Stanford, G. y S. J. Smith. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36, 465-472.
- Thuriès, L., M. C. Larré-Larrouy y M. Pansu. 2000. Evaluation of three incubation designs for mineralization kinetics of organic materials in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31, 289-304.

## BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA

### Formas de nitrógeno orgánico: artículos generales

- Jocteur Monrozier, L. y F. Andreux. 1981. L'azote organique des sols, exemples de quantification des formes protéiques et des combinaisons complexes. *Science du sol*, 3, 219-242.
- Jocteur, Monrozier, L. 1984. *Nature et évolution de l'azote organique dans les sols et les sédiments marins récents*. Thèse Doct. Etat, Univ. Nancy1, 176p.
- Lavoisier, A. L. 1789. *Traité élémentaire de chimie*, Paris
- Stevenson, F. J. 1982a. Nitrogen-organic forms. In *Methods of soil analysis*, Page AL, Miller RH et Keeney, D. R. ed. ASA-SSSA N°9 part 2, 2nd edition : 625-641.
- Stevenson, F. J. 1982b. Organic forms of soil nitrogen. *Humus chemistry*, Wiley, 55-119.
- Stevenson, F. J. 1982c. Origin and distribution of nitrogen in soil. pp. 1-42. En: Stevenson, F. J. (ed.) *Nitrogen in agricultural soils*, Am. Soc. of Agronomy,
- Stevenson, F. J. 1996. Nitrogen-organic forms. pp. 1185-1200. En: Bigham J.M y J. M. Bartels (ed.) *Methods of soil analysis*, ASA-SSSA N°5 part 3, 3rd edition.

### Formas de nitrógeno: métodos por hidrólisis ácido y destilación

- Bremner, J. M. 1960. Forms of nitrogen in soils and plants. *Rothamsted Exp. Stat. Rep.* for 1959, p 59.
- Bremner, J. M. 1965. Organic forms of soil nitrogen. In *Methods of soil analysis*, Black CA et al. ed. Am. Soc. of Agron. 9, part 2, 1238-1255.
- Egoumenides, C., A. Risterucci y K. E. Melebou. 1987. Appréciation de la fertilité azotée des sols tropicaux : étude des fractions organiques de l'azote. *L'agronomie tropicale*, 42, 85-93.
- Keeney, D. R. y J. M Bemner. 1967. A simple steam distillation method of estimating  $\beta$ -hydroxy- $\alpha$ -amino acids. *Anal.Biochem.*, 18, 274-285.
- Tracey, M. V. 1952. The determination of glucosamine by alkaline decomposition. *Biochem. J.*, 52, 265-267.
- Van Slyke, D.D. 1911-12. The analysis of proteins by determination of the chemical groups characteristic of the different amino-acides. *J.Biol.Chem.*, 10, 15-55.

### Mejoras de la hidrólisis ácida

- Barriuso, E., F. Andreux y J. M. Portal. 1990. Caractérisation par hydrolyse acide de l'azote des fractions organiques et organo-minérales d'un sol humifère. *Science du sol*, 1990, 28, 223-236.
- Cheng, C. N., R. C. Shufeldt y F. J. Stevenson. 1975. Amino acid analysis of soils and sediments : extraction and desalting. *Soil Biol.Biochem.*, 7, 143-151.

- Griffith, S. M., F. J. Sowden y M. Schnitzer. 1976. The alkaline hydrolysis of acid-resistant soil and humic acid residues. *Soil Biol. Biochem.*, 8, 529.
- Janel, Ph., L. Jocteur, Monrozier y F. Toutain. 1979. Caractérisation de l'azote des litières et des sols par hydrolyse acide, *Soil Biol. Biochem.*, 11, 141-146.

### **Dosificación de los amino-ácidos**

- Gehrke, C. W., R. W. Zumwalt y K. Kuo. 1971. Quantitative amino acid analysis by gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 19, 605-618.
- Monreal, C. M. y W. B. McGill. 1985. Centrifugal extraction and determination of free amino acids in soil solutions by TLC using tritiated 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène. *Soil Biol. Biochem.*, 17, 533-539.
- Moore, S. y W. H. Stein. 1948. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J. Biol. Chem.*, 176, 367-388.
- Stevenson, F. J. y C. N. Cheng. 1970. Amino acids in sediments: recovery by acid hydrolysis and quantitative estimation by a colorimetric procedure. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 34, 77-88.
- Stevenson, F. J. 1965. Amino acids. pp. 1437-1451. En: Black C.A. et al. (ed.) *Methods of soil analysis*, Am. Soc. of Agron. 9, part 2.
- Warman, P. R. y C. Bishop. 1985. The use of reverse-phase HPLC for soil amino-N analysis, *J. of Liquid Chromat.*, 8, 2595-2606.
- Warman, P. R. y C. Bishop. 1987. Free and HF-HCl-extractable amino acids determined by high performance liquid chromatography in a loamy sand soil. *Biol Fertil. Soils*, 5, 215-218.
- Zanetta, J. P. y G. Vincendon. 1973. Gas-liquid chromatography of the N(O)-heptafluorobutyrate of the isoamyl esters of amino acids. I. Separation and quantitative determination of the constituent amino acids of proteins. *J. of Chromatog.*, 76, 91-99.

### **Dosificación de los amino-azúcares**

- Benzing-Purdie, L. 1981. Glucosamine and galactosamine distribution in a soil as determined by gas-liquid chromatography on soil hydrolysates : effect of acid strength and cations. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45, 66-70.
- Benzing-Purdie, L. 1984. Amino sugar distribution in four soils as determined by high resolution gas chromatography. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 219-222.
- Burtseva, T.I., S. A. Cherkasova y Y. Ovodov. 1985. Quantitative determination of amino sugars in bacterial lipopolysaccharides. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, 6, 739-743.
- Elsou, L. A. y W. T. Morgan. 1933. A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. *Biochem. J.*, 27, 1824-1828.
- Kögel, I. y R. Bochter. 1985. Amino sugar determination in organic soils by capillary gas chromatography using a nitrogen-selective detector. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 148, 260-267.
- Scheidt, M. y W. Zech. 1990. A simplified procedure for the photometric determination of amino sugars in soil. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 153, 207-208.

## Glomaline

- Franzluebbers, A. J., S. F. Wright y J. A. Stuedemann. 2000. Soil aggregation and glomalin under pastures in the southern piedmont USA. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64, 1018-1026.
- Wright, S. F., M. Franke-Snyder, J. B. Morton y A. Upadhyaya. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and Soil*, 181, 193-203.
- Wright, S. F. y A. Upadhyaya. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, 161, 575-586.
- Wright, S. F. y A. Upadhyaya. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198, 97-107.
- Wright, S. F., J. L. Starr e I. C. Paltineanu. 1999. Changes in aggregate stability and concentration of Glomalin during tillage management transition. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63, 1825-1829.

## Dosificación de la urea

- Bremner, J. M. 1982. Nitrogen-Urea. In *Methods of soil analysis, Part 2*, Page AL et al. ed. ASA-SSSA N°9 part 2, 2nd edition, 699-709.
- Douglas, L. A. y J. M. Bremner. 1970. Extraction and colorimetric determination of urea in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 859-862.
- Fearon, W. R. 1939. The carbamido diacetyl reaction : a test for citrullin. *Biochem. J.*, 33, 902-907.
- Watt, G. W. y J. D. Chrisp. 1954. Spectrophotometric method for determination of urea. *Anal. Chem.*, 26, 452-453.

## Nitrógeno potencialmente mineralizable: artículos generales

- Catroux, G., R. Chaussod y B. Nicolardot. 1987. Appréciation de la fourniture d'azote par le sol. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 73, 71-79.
- Cornforth, I. S. y D. Walmsley. 1971. Methods of measuring available nutrients in west indian soils.1.Nitrogen. *Plant and soil*, 35, 389-399.
- Gianello, C. y J. M. Bremner. 1986. Comparison of chemical methods of assessing potentially available organic nitrogen in soil, *Commun. Soil Sci. Plant anal.* 17, 215-236.
- Giroux, M. y T. Sen Tran. 1987. Comparaison de différentes méthodes d'analyse de l'azote du sol en relation avec sa disponibilité pour les plantes. *Can. J. Soil Sci.*, 67, 521-531.
- Juma, N. G. y E. A. Paul. 1984. Mineralizable soil nitrogen: amounts and extractability ratios, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 76-80.
- Keeney, D. R. y J. M. Bremner. 1966. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. *Agronomy journal*, 58, 498-503.

## Nitrógeno potencialmente mineralizable: métodos biológicos

- Cabrera, M. L. y D. E. Kissel. 1988. Evaluation of a method to predict nitrogen mineralized from soil organic matter under field conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52, 1027-1031.
- Campbell, C. A. 1978. Soil organic carbon, Nitrogen and fertility. In *Soil organic matter*, Schnitzer et Khan ed. Elsevier, 224-225 et 254.

- Chaussod, R., B. Nicolardot, G. Soulas y H. Joannes. 1986. Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. II-Cinétique de minéralisation de matière organique microbienne marquée au  $C^{14}$ . *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 23, 183-196.
- Deans, J. R., J. A. Molina y C. E. Clapp. 1986. Models for predicting potentially mineralizable nitrogen and decomposition rate constants. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50, 323-326.
- Keeney, D. R. y J. M. Bremner. 1967. Determination and isotope ratio analysis of different forms of nitrogen in soil: 6. mineralizable nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31, 34.
- Marquardt, D. W. 1963. An algorithm for least-squares estimations of nonlinear parameters. *J. Soc. Indust. Appl. Math.*, 11, 431-441.
- Mary, B. y J. C. Rémy. 1979. Essai d'appréciation de la capacité de minéralisation de l'azote des sols de grande culture. I. Signification des cinétiques de minéralisation de la matière organique humifiée. *Ann. Agron.*, 30, 513-527.
- Nuske, A. y J. Richter. 1981. N-mineralization in löss-parabrownearthes : incubation experiments. *Plant and Soil*, 59, 237-247.
- Reynolds, W. D. y E. G. Beauchamp. 1984. Comments on " Potential errors in the first-order model for estimating soil nitrogen mineralization potentials ", *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 698.
- Richter, J., A. Nuske, W. Habenicht y J. Bauer. 1982. Optimized N-mineralization parameters of loess soils from incubation experiment. *Plant and Soil*, 68, 379-388.
- Seyfried, M. S. y P. S. C. Rao. 1988. Kinetic of nitrogen mineralization in Costa Rican soils: model evaluation and pretreatment effects. *Plant and Soil*, 106, 159-169.
- Smith, J. L., R.R. Schnabel, B. L. McNeal y G. S. Campbell. 1980. Potential errors in the first-order model for estimating soil nitrogen mineralization potentials. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 996-1000.
- Stanford, G., J. N. Carter y S. J. Smith. 1974. Estimates of potentially mineralizable soil nitrogen based on short-term incubations. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 38, 99-102.
- Waring, S. A. y J. M. Bremner. 1964. Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability. *Nature (London)*, 201, 951.

### **Nitrógeno potencialmente mineralizable: métodos químicos**

- Campbell, C. A., Y. W. Jame, A. Jalil y J. Schoenau. 1997. Use of hot  $KCl-NH_4^+-N$  to estimate fertilizer N requirements. *Can. J. Soil Sci.*, 77, 161-166.
- Fox, R. H y W. P. Piekielek . 1978. A rapid method for estimating the nitrogen-supplying capability of a soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42, 751-753.
- Gianello, C. y J. M. Bremner. 1988. A rapid steam distillation method of assessing potentially available organic nitrogen in soil, *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.*, 19, 1551-1568.
- Guiraud, G. y J. C. Fardeau. 1977. Dosage par la méthode Kjeldahl des nitrates contenus dans les sols et les végétaux. *Ann. Agron.*, 28, 329-333.
- Mac Lean, O.A. 1964. Measurement of nitrogen supplying-power of soils by extraction with sodium bicarbonate. *Nature*, 203, 1307-1308.
- Stanford, G. y S. J. Smith. 1978. Oxidative release of potentially mineralizable soil nitrogen by acid permanganate extraction, *Soil Sci.*, 126, 210.
- Stanford, G. 1978. Evaluation of ammonium release by alkaline permanganate extraction as an index of soil nitrogen availability. *Soil Sci.*, 126, 244.
- Uien, A. y A. R. Selmer-Olsen. 1980. A laboratory method for evaluation of available nitrogen in soil. *Acta Agric. Scand.*, 30, 149.

- Velly, J., C. Egoumenides, J. Pichot y J. L. Marger. 1980. L'azote extractible par une solution de KCl et la fourniture d'azote à la plante dans 40 sols tropicaux. *Agronomie tropicale*, 35: 374-380.
- Whitehead, D. C. 1981. An improved chemical extraction method for predicting the supply of available soil nitrogen. *J. Sci. Food Agric.*, 32, 359-365.

### **Biomasa microbiana, residuos orgánicos y fertilización nitrogenada**

- Abruma, F., E. W. Pearson y C. B. Elkins. 1958. Quantitative Evaluation of Soil Reaction and Base Status Changes Resulting from Field Application of residually Acid-Forming Nitrogen Fertilizers. *Soil Sci. Soc. Proc.* 22: 539-542.
- Allison, F. E. 1966. The Fate Of Nitrogen Applied To Soils. In *Advance In Agronomy* 18: 219-258.
- Araque, Y. 1990. Determinación en condiciones de laboratorio de la evolución del nitrógeno mineral de un alfisol de la serie Barinas bajo dos tratamientos de fertilización. Trabajo de Grado, lute Agrotecnia Ejido 36p. Anexos.
- Balesdent, J., G. H. Wagner y A. Mariotti. 1988. Soil Organic Matter Turn Over in Long Term Field Experiments as Revealed By Carbon 13 Natural Abundance. *Soil Sc. Soc. Am. J.* 52 : 118-124.
- Bremner, J. M. 1965. Inorganics Forms of Nitrogen. En: Black C.A. y D. D. Evans (eds.) *Methods of soil analysis. chemical and microbiological properties*. Asa. Madison, Wisconsin.
- Broadbent, F. E. 1986. Empirical Modeling of Soil Nitrogen Mineralisation. *Soil Science* (3): 208-213.
- Cambardella, C. A. y E. T. Elliott. 1994. Carbon and Nitrogen Dynamics of Soil Organic Matter Fractions From cultivated Grassland Soils. *Soil Sci. Soc. Amer.J.* 58: 123-130.
- Campbell, C. A., V. O. Biederbeck, H. Ukrainetz y T. Boumann. 1994. Effect of Long Term Use of Urea and anhydrous Ammonia on Crop Yields and Soil Characteristics. *XV World Congress Of Soil Sci.* 5b: 359-360.
- Campbell, C. A., Y. W. Jame, O. Akinremi y M. L. Cabrera. 1994. Adapting the Potentially Mineralizable N Concept for the Prediction of Fertilizer N Requirements *International Symposium On Nitrogen Economy In Tropical Soil*, Port Of Spain, Trinidad Jan 9-14 1994 P.25.
- Chacón, E. J. 1992. *Crecimiento Compensatorio de Panicum Maximum*. Tesis De Post-Grado De Ecología Tropical. Fac. De Ciencias Univ. De Los Andes, 198 P. Anexos.
- Charreau, C. 1975. Organic Matter and biochemical Properties of Soils In The Dry Tropical Zone of West Africa. In *Organic Materials as Fertilizers. Fao Soil Bulletin N° 27*.
- Chaussod, R., M. Zuvia, M. C. Breuil y J. M. Hétier. 1992. Biomasse microbienne et "statut organique" des sols tropicaux: exemple d'un sol vénézuélien des llanos sous différent systèmes de culture. *Cah. Orstom Pedol.* 27: 59-67.
- Chotte, J. L. 1986. *Evolution d'une biomasse racinaire doublement marquée (14c-15n) dans un système sol-plante: etude sur un cycle annuel d'une culture de maïs*. thèse de doctorat université de Nancy I. 116 P. Anexos.
- Craswell, E. T. y D. C. Godwin. 1984. The Efficiency of Nitrogen Fertilizers applied to Cereals in different Climates. *Advances in Plant Nutrition*. P.B. Tinker y A.Läuchli Eds. P.1-55.
- Da Silva, P. R. F. y C. A. Stutte. 1981. Nitrogen Volatilization from Rice Leaves: Effect of Source of Applied Nitrogen in Nutrient Culture Solution. *Crop Sci.* 21: 913-916.
- De Boers, W., H. Duyts y H. J. Laanbroek. 1989. Urea Stimulated Autotrophic Nitrification in Suspensions of Fertilized, Acid Heath Soil. *Soil Biol. Biochem.* 21: 349-354.
- Delgado, R., J. Comerma y E. C. Bisbal. 1989. Validación de los aspectos balance de agua y nitrógeno del modelo cereas maíz. Validación del balance de nitrógeno. Comunicación Al Xº Congreso Venezolano De La Ciencia Del Suelo Maturín 2-8 Jul. 1989.

- Delgado, R. 1994. Soil mineral N and organic matter mineralization effect on maize n fertilizer application on a mollisol and an ultisol in Venezuela. *XV Congreso Mundial De La Ciencia Del Suelo, Acapulco* Vol. 5b P. 351-352.
- Díaz-Raviña, M., M. J. Acea y T. Carballas. 1993. Microbial Biomass and C and N Mineralization in Forest Soils. *Biores. Technol.* 43: 161-167.
- Díaz-Raviña, M., M. J. Acea y T. Carballas. 1995. Seasonal Changes in Microbial Biomass and Nutrient Flush in Forest Soils. *Biol. Fertil. Soils* 19: 220-226.
- Doran, J. W. y M. S. Aulakh. 1994. Denitrification in Soils under Sustainable Management as compared with conventional Tillage. *Xv Congreso Mundial De La Ciencia Del Suelo* Vol. 5 Symposia P.46-47.
- Dudal, R. y J. Deckers. 1993. Soil organic matter in relation to soil productivity concluding remarks. *Proceedings of soil organic matter dynamics and sustainability of tropical agriculture*. P. 377-380 John Wiley and Sons Eds.
- Duxbury, J. M., M. S. Smith y J. W. Doran. 1989. Soil organic matter as a source and a sink of plant nutrients in *dynamica of soil organic matter in tropical ecosystems* P. 33-67 Edited By D.C.Coleman, M. Oades, G.Uehara Niftal Proyect University Of Hawaii
- Feller, C. 1988. *Fertilité des sols dans les agricultures paysannes caribéennes. effet des restitutions organiques*. rapport final projet Cee-Orstom Tsda- 0178 F
- Feller, C. 1993. Organic inputs, soil organic matter and functional soil organic compartments in low activity clay soils in tropical zones. *Proc. of intern. Symp. Soil Organic Matter Dynamics Ans Sustainability Of Tropical Agriculture* P.77-88
- Feller, C., C. Castellagnet, De E. Guiran, R. Pilgrim, A. Ramdass, S. M. Griffith, M. Ahmad y M. Clairon. 1988. Précédents culturaux, fertilisation et productivité d'un maïs pour quelques types de sol. *Rapport Final Projet Cee Orstom Tsda-178 F*.
- Firth, P., H. Thitipoca, S. Suthipradit, R. Westlaar y D. F. Beech. 1973. Nitrogen balance studies in the central plain of Thailand. *Soil Biol. Biochem.* Vol 5: 41-46.
- Fox, R. H. y W. P. Piekielek. 1978. Field Testing of several Nitrogen Capability Indexes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42: 747-750.
- Fox, R. H. y W. P. Piekielek. 1978. A Rapid Method for Estimating the Nitrogen Supplying Capability of a Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42: 751-753.
- Francis, D. D., J. S. Schepers y M. F. Vigil. 1993. Post Anthesis Nitrogen Losses from Corn. *Agron. J.* 85: 659-663.
- Ganry, F. 1990. *Application de la méthode isotopique a l'etude des bilans azotés en zone tropicale sèche*. Thèse De Doctorat D'Etat En Sciences Naturelles. Univ. Nancy I 254 P. Anexos
- Gaston, L., R. S. Mansell y H. M. Selim. 1992. Predicting removal of major soils cations and anions during acid infiltration: Model Evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 994-950.
- Germon, J. C. 1985. La Dénitrification dans les Sols cultivés. *Fertilisants et Agriculture*. Vol. 89 P.3-15
- Harper, L. A., V. R. Catchpoole, R. Davis y K. L. Weir. 1983. Ammonia Volatilization: Soil, Plant, and microclimate effects on diurnal and seasonal Fluctuations. *Agron.J.* 75: 212-218
- Hart, P. B. S., J. H. Rayner y D. S. Jenkinson. 1986. Influence of pool substitution on the interpretation of fertilizer experiments with <sup>15</sup>N *Journal of Soil Science* 37: 389-403
- Hershey, D. R. 1992. Acidity and Basicity of Fertilizers. *J. Chem. Education* 69: 642.
- Hétier, J. M., F. Andreux, E. Schouller y C. Marol. 1986. Rhizodeposition as organic matter input to the soil after a labelled <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N cultivation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 76-80.
- Hétier J.M., G. Sarmiento, T. Aldana, D. Acevedo, M. Zuvia y J. M. Thiery. 1989. Nitrogen fate under maize and pasture cultivated on an alfisol in the western llanos savannas, Venezuela. *Plant And Soil* 114: 295-302.

- Hétier, J. M. y B. Silva. 1992, El nitrógeno derivado de las actividades agrícolas y la contaminación de las napas freáticas. *Seminario Internacional Aguas y Agricultura Cidiat Mérida* 5-10 Oct. 1992
- Hétier, J. M., M. Zuvia, S. Houot y J. Thiery. 1989. Comparaison de trois modèles choisis pour la simulation du cycle de l'azote dans les agro-systèmes tropicaux. *Cah. Orstom Sér. Pédol.* Vol Xxv, N° 4, 1-9
- Infante, C. 1988. Ciclo del nitrógeno en un cultivo de caña de azúcar (San Felipe Edo. Yaracuy). Tesis Doctoral Universidad Central De Venezuela Facultad De Ciencias 176 P. Anexos
- Jenkinson, D. S., R. H. Fox y J. H. Rayner. 1985. Interaction between fertilizer nitrogen and soil nitrogen: The So Called "Priming Effect". *J. Soil Sci.* 36: 425-444.
- Jenkinson D.S., P. B. S. Hart, J. H. Rayner y L. C. Parry. 1987. Modelling the turnover of organic matter in long term experiments at Rothamsted. *Intecol. Bull.* 15: 1-8.
- Jones, C. A. y J. R. Kiniry. 1986. *A Simulation Model of Maize Growth and Development*. Ed. Texas University Press 165 P.
- Juma, N. G. y E. A. Paul. 1984. Mineralizable Soil Nitrogen. Amounts and Extractibility Ratio. *Soil Sci. Soc. Am.J.* 48: 76-80
- Kelley, K.R. y F. J. Stevenson. 1985. Characterization and Extractability of Immobilized <sup>15</sup>N from the Soil Microbial Biomass. *Soil Biol. Biochem.* 17: 517-523.
- Kengni, L., G. Vachaud, J. L. Thony, R. Laty, B. Garino y S. Recous. 1994. Field measurements of water and nitrogen losses under irrigated maize by the combined use of neutron moisture meter, tensiometers, and 15N labelled fertilizer. *Xv Congreso Mundial De La Ciencia De Suelo Acapulco*, Vol 5, P. 476-488
- Lalisse, G., B. Brunel y A. Chalamet. 1988. Denitrification in a cultivated Soil: Optimal Glucose and Nitrate Concentration *Soil Biol Biochem.* 20: (6) 839-844
- Lauren, J. G. 1991. *Limitations and usefulness of nitrogen 15 techniques in measuring mineralization/immobilization and plant uptake of soil and fertilizer Nitrogen*. Diss. Ph.D Cornell University 139 P.
- Legg, J. O. y F. E. Allison. 1967. A tracer study of nitrogen balance and nitrogen availability with 12 soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 31: 403-406.
- Legg, J. O., F. W. Chichester, G. Stanford y W. H. Demar. 1971. Incorporation of <sup>15</sup>N tagged mineral nitrogen into stable forms of soil organic Nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35: 273-276.
- Mary, B., S. Recous y J. M. Machet. 1988. A comprehensive approach to the fertilizer part of plant nitrogen uptake. In *Nitrogen Efficiency In Agricultural Soils* Editado por D. S. Jenkinson y K.A. Smith Elsevier Applied Science.
- Mckenney, D. J., S. W. Wang, C. F. Drury y W. I. Finlay. 1995. Denitrification, immobilisation and mineralisation in nitrate limited and non limited residue-amended Soil. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 59: 118-124
- Molina, J. A. E., C. H. Clapp, M. J. Schaeffer, F. W. Chichester y W. E. Larson. 1983. NcSoil a model of nitrogen and carbon transformations in soil: description, calibration and Behavior. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 87-91.
- Morghan, J. T., T. J. Rego y R. J. Buresh. 1984. Labelled Nitrogen Fertilizer Research with Urea in the Semi arid Tropics. *Plant and Soil* 82: 193-203.
- Mulogoy, K. y R. Merckx. 1993. Soil Organic Matter Dynamics and Sustainability of Tropical Agriculture. Conference Summary and Recommendations, P.381-384 John Wiley And Sons Eds.
- Page, A. L., R. H. Miller y D. R. Keeney, 1982. *Methods of Soil Analysis. Chemical and Microbiological Properties*. Asa-Sssa. Madison, Wisconsin.
- Papakosta, D. K. y A. A. Gagianas. 1991. Nitrogen and dry matter accumulation, remobilization, and losses for mediterranean wheat during grain filling. *Agron.J.* 83: 864-870

- Parkin, T. B. 1987. Soil microsite as a source of denitrification Variability. *Soil Sci.Soc.Amer. J.* 51: 1194-1199
- Pieri, C. 1989. *La fertilité des sols de savanes. bilan de trente ans de recherche et de développement agricole au sud du sahara.* Ministère de la Coopération-Irat/Cirad 444p.
- Plasentis, I. 1994. Soil degradation and climate induced risks of crop production in the Tropics. *Xv World Congress Of Soil Science, Vol I P.* 163-188.
- Powlson, D. S., G. Pruden, A. E. Johnston y D. S. Jenkinson. 1986. The nitrogen cycle in the broadbalk wheat experiment: recovery and losses of <sup>15</sup>N labelled fertilizer applied in spring and inputs of nitrogen from atmosphere. *J. Agric. Sci. Camb.* 107: 591-609
- Rasmussen, P. E. y C. R. Rohde. 1989. Soil Acidification from Ammonium Nitrogen Fertilization in Moldboard Plow and Stubble-Mulch Wheat Fallow Tillage. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53: 119-122.
- Rolston, D. E., A. N. Sharpley, D. W. Toy y F. E. Broadbent. 1982. Field Measurements of Denitrification: In Rates During Irrigation Cycles. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 46: 289-296
- Sánchez, P. A. 1994. Tropical Soil Fertility Research: Towards the second Paradigm. *Xv Congreso Mundial De La Ciencia Del Suelo Acapulco 1994 Vol I P.* 65-88
- Schmidt, E.L. 1982. Nitrification in Soil. En: *Nitrogen In Agricultural Soils.* Asa. Madison, Wisconsin.
- Silva, B. 1989. *Determinación de las pérdidas de nitrógeno por volatilización en una parcela de maíz.* trabajo de grado IUTE Ejido, Estado Mérida 32 P. Anexos
- Shinde, J. E., K. Krishnaya, K. V. Rao y G. Gandhi. 1985. Transformation of <sup>15</sup>N Labelled Urea in Rice-Wheat cropping System. *Plant And Soil* 88: 345-351
- Stanford, G. y S. J. Smith. 1972. Nitrogen Mineralization Potentials of Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 36: 465-472.
- Stevenson, F. J. 1965. *Origin and Distribution of Nitrogen In Soil.* In *Soil Nitrogen.* Ed. By Bartolomew W.V. and Clark F.E. American Society of Agronomy, Inc. Publishers
- Stevenson, F. J. 1982. Organic Matter and Nutrient Availability. *12th Congress of Soil Science New Dehli Vol I,* 137-151
- Stone, D. L. R., D. A. Whitney, K. A. Janssen y J. H. Long. 1991. Soil Properties after twenty years of Fertilization with different Nitrogen Sources. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55: 1097-1100.
- Stumpe, J. M. y P. L. Vlek. 1991. Acidification induced by Different Nitrogen Sources in Columns of selected tropical Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53: 145-151.
- Stumpe, J. M., P. L. Vlek, S. K. Mughogho y F. Ganry. 1989. Microplots size requirements for measuring balances of fertilizer nitrogen<sup>15</sup> applied to maize. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 53: 797-800.
- Tate, R. L. 1987. Soil organic matter as a plant nutrient Reservoir In *Soil Organic Matter, Biological And Ecological Effects.* Cap. 9. Pag. 165-184. Wiley Interscience Publication John Wiley and Sons Inc. N.Y. USA.
- Tiessen, H. Y. y J. W. Stewart. 1983. Particle-size fractions an their use in studies of soil organic matter. II. cultivation effects on organic matter composition in size fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 507-514.
- Uehara, G. 1994. Modelling Agrosystems performance to deal with climate change and sustainable Agriculture. *Xv Congreso Mundial De Ciencia De Suelo, Acapulco, 1994 Vol. Vi P.* 2-19
- Warren, G. P. y D. C. Whitehead. 1988. Available Soil Nitrogen in Relation to Fractions of Soil Nitrogen and other Soil Properties. *Plant And Soil* 112: 155-165
- Westlaar, R. y G. D. Farquahr. 1980. Nitrogen Losses from Tops of Plants. *Advance In Agronomy* 33: 263-302
- Zapata, F. y C. Hera. 1994. International Networking In Soil Plant Nitrogen Research. *International Symposium on Nitrogen Economy In Tropical Soil.* Trinidad, Jan. 9-14 1994

## Cinética de mineralización

- Henriksen, T. M. y T. A. Breland. 1999. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 1121-1134.
- Recous, S., D. Robin, D. Darwis y B. Mary. 1995. Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1529-1538.
- Thuriès, L., M. Pansu, C. Feller, P. Hermann y J. C. Rémy. 2001. Kinetics of added organic matter decomposition in a mediterranean sandy soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 997-1010.
- Thuriès, L., M. Pansu, M. C. Larre-Larrouy y C. Feller. 2002. Biochemical composition and mineralization kinetics of organic inputs in a sandy soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 34, 239-250.

## FOSFORO

### Introducción

El fósforo es un macronutriente para los vegetales, conjuntamente con el nitrógeno y el carbono. No es muy abundante de los suelos, pero desempeña un papel fundamental en agronomía y en biogeoquímica. Existe en todos los organismos vivos. Es capaz de formar innumerables compuestos organo-fosforados covalentes y de vincularse con C, N, O, Al, Fe, Ca. Participa en los procesos fundamentales de transferencias de energía solar en energía química (fotosíntesis) y favorece el desarrollo de los sistemas radiculares de plantas.

Este elemento se encuentra en los suelos tanto en forma inorgánica como orgánica y ambas afectan la cantidad de este nutriente "disponible" para la nutrición de las plantas. Sin embargo, esta "disponibilidad" depende de factores como solubilidad, pH del suelo, actividad microbiana y descomposición de la materia orgánica.

La caracterización del P y las distintas formas presentes en el suelo permite determinar las necesidades de los vegetales y desarrollar métodos susceptibles satisfacerlos. Este aspecto nutricional se vincula estrechamente con las transformaciones pedogenéticas, y también con la contaminación del medio ambiente.

Se han identificado más de 220 minerales de fósforo estables a escala del tiempo geológico. La industria fabrica compuestos extremadamente variados que van desde los abonos hasta los pesticidas y detergentes, pasando por los suavizadores de agua, los retardadores de incendio, los aditivos para combustibles, los plásticos. Estos compuestos se extienden en nuestro medio ambiente y desempeñan un papel no desdeñable en la ecología. La antropización de las tierras arables y algunas técnicas culturales, generan pirofosfatos mientras que los esparcimientos de lodos de decantación aportan polifosfatos y formas de P orgánico que no existen en el medio natural.

Se admite que los vegetales no pueden absorber directamente el fósforo que les es indispensable si no es a través de la solución del suelo en forma de ortofosfatos. Las formas orgánico mayoritarias en las capas superficiales de los suelos cultivados (alrededor de 50 a 75 %) sirven de reservas y están en las continuas transformaciones, del ciclo de inmovilización y mineralización P orgánica - P mineral influenciado por el pH, por los fenómenos de oxirreducción y bioquímicos (fosfatases) así como por las condiciones climáticas.

En el suelo cuyo pH varía en general entre 3,5 y 10, las formas ortofosfatos están representadas esencialmente por  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  en medio ácido y  $\text{HPO}_4^{2-}$ , en medio básico la actividad de estos dos iones es aproximadamente igual a pH 7,2.

Los distintos métodos tendrán pues por objeto evaluar el P total presente, pero sobre todo las distintas formas que están más o menos disponibles, a corto y medio plazo en relación con distintos factores tales como (White y Beckett, 1964; Dalal y Hallsworth, 1976; Roche P., Grière *et al*, 1978):

- cantidad (Q) (representada por el P extractable, P ocluido, P total según el caso);
- capacidad, mantenimiento de la concentración de P en la solución de suelo expresado por el poder fijador para P, las isotermas de adsorción (Q/I) o la velocidad de desorción en función del tiempo;
- intensidad (I), potencial químico de los iones  $\text{PO}_4^{3-}$  en la solución de suelo y permitiendo un crecimiento normal de los vegetales a lo largo del ciclo vegetativo;
- difusibilidad, ancha de la zona susceptible de abastecer la solución del suelo.

Es necesario tener en cuenta, que en este ciclo, a diferencia de los elementos C, H, N, O, S, no existe pérdidas por volatilización. Esta propiedad está a la base del peligro de eutrofización de los medios acuáticos por la contaminación, la acción de P prolongándose durante muchos años, aunque se agotan las fuentes de contaminación.

### P Total

La dosificación del P total debe realizarse en laboratorios especializados ya que requiere la disolución total del suelo o la roca madre por ataque ácido o fusión alcalina, técnicas fuera de alcance de los laboratorios equipados sólo para el diagnóstico rápido de la fertilidad potencial de los suelos cultivados. Para todo lo que se refiere al P total nos limitaremos pues a la bibliografía citada al final de este capítulo.

## **Métodos de fraccionamiento de las formas de P**

### Introducción

El análisis del P total no permite detectar los mecanismos que, a través de las transformaciones complejas microbiológicas y químicas, modifican las formas de P, por lo tanto, no vamos a describir aquí los métodos de determinación del P total del suelo. Tampoco mencionaremos aquí los métodos tradicionales de fraccionamiento de las formas de P supuestamente ligadas al Ca, Fe, o Al que a lo largo del último medio siglo demostraron su inutilidad en materia de diagnóstico de la fertilidad de los suelos cultivados.

Se admite que los vegetales toman el P que les es necesario en función del pH, en forma de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y/o  $\text{HPO}_4^{2-}$  transportado por la solución del suelo. Se admite que en el medio natural, los intercambios de un pool al otro son bastante rápidos, por lo menos por lo que se refiere al equilibrio de la solución del suelo con las formas orgánicas insolubles. La fracción orgánica puede variar entre 20 y 80% del P total según el tipo de suelo.

### Métodos, extracciones selectivas - índice de disponibilidad

La terminología para evaluar las distintas formas extraídas es muy variada, mostrando por eso así la complejidad de los fenómenos de distribución e intercambios de P en el suelo, de los flujos inter compartimentos que determinan la dinámica del sistema. Las formas de fósforo en el suelo pueden ser de dos tipos en función de su movilidad:

a) móviles (conexiones químicas - coordinación) igualmente llamadas activas, asimilables, fácilmente desprendibles, disponibles, cambiables - valor E, extractables, hidrolizables, inestables - valor Larsen L, solubles, utilizables).

b) Recalcitrantes igualmente llamadas difícilmente desprendibles y/o fijadas (conexiones por quelación.) P- Ca, P- FE, P de inclusión, P ocluido orgánico e inorgánico, P biomasa, P fijado por minerales silicatados) y de los métodos que permiten evaluar la capacidad de fijación de P, la capacidad de intercambio, el potencial P, la retención P, la retrogradación, el poder fijador.

Algunos términos designan claramente un método de inmovilización temporal (P cambiante), pero los métodos operatorios no dan siempre una selectividad real. Para merecer el nombre de P "asimilable" debe haber una relación directa con la alimentación normal de la planta, relación que puede ser detectada por un trazador isotópico o eventualmente por variaciones positivas de crecimiento y aumentos de rendimiento (respuesta a los abonos). Si no se estableció ninguna correlación con una planta cultivada, según el tipo de suelo y el P exportado, el término de asimilable es arbitrario.

Se han desarrollado diversos procedimientos químicos para la extracción de ese "fósforo disponible" el cual se define dependiendo del método de extracción que se utilice. Actualmente distintos tipos de fósforo disponible han sido formulados según las extracciones que se muestran en el Cuadro AA16.

Sin embargo, todos estos métodos tienen sus objeciones acerca de su relación con la realidad del suelo estudiado. Por ejemplo, la extracción Olsen, con bicarbonato 0,5 M y a pH 8,5 podría disolver parte del fósforo orgánico debido al valor alto de pH (Tan, 1996). Por lo tanto, este fósforo "disponible" podría tener un componente "no disponible", mientras que el extracto de agua o  $\text{CaCl}_2$  0,01 M se puede asemejar más a la solución del suelo. Los otros extractos con soluciones ácidas pueden incluir fosfatos minerales insolubles que en condiciones normales no están disponibles para las plantas.

### *P de la solución de suelo (en agua o sales de Ca diluidos)*

#### Principio

Este método de extracción en el agua (o en soluciones de 0,01 mol L<sup>-1</sup>  $\text{CaCl}_2$  o  $\text{CaSO}_4$ ) permite evaluar una concentración en P cercana de la existente en la solución del suelo y determinar los posibles límites de carencia.

La renovación permanente de P en la solución del suelo es de una gran importancia para la nutrición de un vegetal a lo largo del ciclo vegetativo. Está garantizado gracias a la acción de los microorganismos, de las enzimas (fosfatasas). Si la velocidad de paso de P en la solución de suelo es inferior a la cantidad necesaria para la planta para un crecimiento normal, hay disminución de la actividad de los vegetales más o menos grave (límite máximo de falta, enanismo).

#### Reactivos:

- Agua desmineralizada;
- Discos-filtro o membrana 0,22 m;
- Filtros de poro muy fino
- Cloruro de calcio 0,01 mol L<sup>-1</sup>;
- Sulfato de calcio 0,01 mol L<sup>-1</sup> (solubilidad 2,09 g L<sup>-1</sup>).

Cuadro AA16. Algunos reactivos utilizados para la extracción de P en el suelo

Tipo	Método, extractante	Autores
Varios	Agua, resina aniónica, electrodiálisis EUF, evaluación de pools por dilución isotópica con $^{32}\text{P}$ o $^{33}\text{P}$ ,	Larsen, Fardeau, Morel
Extracciones por complejantes	EDTA, $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , + DTPA pH 7,6	Soltanpour
Extracciones básicas	$\text{NaOH}$ , $\text{KOH}$ , $\text{NH}_4\text{OH}$ , $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , $\text{NaHCO}_3$ pH 8,5 $\text{K}_2\text{CO}_3$ , $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	Olsen Michigin
Extracciones por ácidos orgánicos y sus sales	Ácido acético - acetato $\text{NH}_4$ o $\text{Na}$ pH 2,5 pH 4,8 Ácido cítrico - citrato $\text{NH}_4$	Morgan Dyer, 1894 Demolon, 1932 NF X31-160, 1993
	Ácido láctico - lactato $\text{NH}_4$ o $\text{Ca}$	
	Ácido oxálico - oxalato $\text{NH}_4$	Joret y Hébert, 1955 NF X31-161, 1993
	Ácido tioglicólico + $\text{NH}_4\text{F}$ Ácido acético + lactato $\text{NH}_4$	Egner-Riehm
Extracciones por fuertes ácidos mineral y sus sales	$\text{HCl}$ + $\text{H}_2\text{SO}_4$ $\text{HCl}$ + $\text{NH}_4\text{F}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,001 mol $\text{L}^{-1}$ pH 3,0 0,01 mol $\text{L}^{-1}$ pH 2,0 0,005 mol $\text{L}^{-1}$ 0,2 mol $\text{L}^{-1}$ $\text{CaSO}_4$ 0,005 mol $\text{L}^{-1}$ $\text{CaCl}_2$ 0,005 mol $\text{L}^{-1}$	Mehlich (n°1), 1953 Bray y Kurtz 1, 1945 Truog Peech Keer Stieglitz

### Procedimiento

- Pesar 5 g de suelo < 2 mm secado aire en un tubo a centrifugación con tapa atornillada; añadir 50 mL de agua destilada y agitar cinco minutos.
- Centrifugar 15 minutos a 10.000 g hasta obtención de un líquido límpido.
- Filtrar sobre filtro analítico muy fino (azul) o sobre filtro 0,22 m subido sobre una jeringuilla de 20 mL.
- Tomar una alícuota que contiene alrededor de 10 moles de P para determinar el P-soluble agua.

### Método Olsen (P extraíble con bicarbonato de sodio a pH 8,5)

#### Principio

El P extraído por este método corresponde al P biológico más disponible, a las formas inestables orgánicas e inorgánicas, así como a una fracción de P microbiano.

El método es aplicable a los suelos básicos, neutros o ácidos. El extractante disminuye la concentración del calcio en solución, causando la precipitación de  $\text{CaCO}_3$  insoluble. La solubilidad de

los fosfatos de Ca aumenta cuando la actividad de Ca disminuye (efecto P del encalado). Se extrae una parte de P orgánico inestable y P - Ca inorgánico. En los suelos ácidos, los fosfatos de Fe y Al (strengite-varis) son tanto más solubles cuanto que el pH se eleva, hacia pH 6 a 7 dónde las formas  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$  se producen a un nivel igual. En el método Olsen modificado Dabin (1967), se añade  $\text{FNH}_4$  que permite acomplejar Fe y Al y en consecuencia de poner en solución una mayor cantidad de P, lo que para algunos suelos tropicales, a escaso tipo en Ca, permite correlacionar mejor el P extracto a los rendimientos culturales.

### Reactivos

- Bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$  MM = 84,01g mol<sup>-1</sup>) 0,5 mol L<sup>-1</sup>
- el pH se ajusta a pH 8,5 con una solución 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH
- utilizar soluciones en seco preparadas y conservadas en frascos herméticamente cerrados
- carbón activo modelo DARCO 60 libre de P (que debe controlarse y purificar por HCl 2 mol L<sup>-1</sup>, luego por el reactivo  $\text{NaHCO}_3$  y enjuague final al agua desmineralizada).

### Procedimiento

- Pesar 5 g de suelo 2 mm, secado aire en un tubo de centrifugación de 250 mL
- añadir 100 mL de reactivo bicarbonato de sodio; agitar durante treinta minutos
- centrifugar cinco minutos a 10.000 g y filtrar (la adición de carbón activado de tipo DARCO 60 libre de P permite obtener un filtrado claro e incoloro, pero esta adición no debe ser sistemática y debe reservarse a las muestras turbias después de filtración); tomar un alícuota que se neutralizará y se utilizará para la dosificación.

### P extractable por resina aniónica

#### Principio

La extracción se opera por medio de una resina intercambiadora de aniones cuya granulometría debe estandarizarse > a 0,5 mm. Las resinas aniónicas permiten extraer las formas de P inorgánico más disponibles biológicamente. Al hacer variar el tiempo de contacto, se puede tener también una idea de la velocidad de la extracción de P.

#### Resinas

Resina intercambiadora de aniones Dowex 1 8x50 forma bicarbonato; resina intercambiadora de aniones Dowex 2 forma cloruro (de partículas superior o igual a 0,5 mm controlado por tamizado húmedo, las partículas más finas se rechazan).

#### Procedimiento

- Pesar 5 g de suelo y triturar a 0,1 mm en un frasco de centrifugación de 100 mL;
- Añadir 5 g de resina que no implican partículas inferiores a 0,5 mm.;
- Añadir 50 mL de agua destilada; agitar 16 horas
- Separar la resina sobre un tamiz de 0,250 m (módulo NF 25, AFNOR)

- Lavar con agua para aislar bien la resina sobre el tamiz
- Vaciar la resina en del beaker de un chorro de bacín
- Eliminar el agua por decantación y añadir 25 mL de NaCl en solución al 10%
- Calentar a baño-de Maria a 80°C durante 45 minutos
- Enfriar y hacer pasar la solución en un frasco medido de 50 mL
- Enjuagar la resina por NaCl 10% en un beaker de 50 mL
- Homogenizar y tomar una alícuota para valorar P intercambiado

Nota: La extracción de P se hace sin alterar la muestra y sin modificar el pH del suelo. Este método permite simular la acción de las raíces. Al dejar en contacto la muestra durante períodos de tiempo variables, se puede obtener una idea bastante precisa de los factores cantidad, capacidad y velocidad. El método pide entonces contactos prolongados de 48 horas a tres semanas.

### ***Determinación de la disponibilidad del P por dilución isotópica***

Los métodos de dilución isotópico  $^{32}\text{P}$  para el estudio de la fertilización se han realizado por primera vez hace más de medio siglo (Dean *et al.*, 1947).

Distintas técnicas fueron desarrolladas primero por Larsen (1952), considerando la cantidad de P isotópicamente intercambiable por medio de una prueba por cultivo de una planta patrón como el Ray-grass (valor L). También en la misma época, Gunnarson-Frederickson (1952), luego de medir la cantidad de iones fosfatos intercambiables por unidad de tiempo en un sistema suelo-solución pudo dar una definición experimental del P intercambiable (valor E). Rápidamente los experimentadores se dieron cuenta que los valores E y L son dos expresiones del mismo conjunto de P del suelo pero a escala de tiempo diferente. Este método da una buena idea de la biodisponibilidad de P en el suelo y los sedimentos. Este fósforo biodisponible se definió (Fardeau, 1997) como "el conjunto del fósforo de un sistema suelo-solución que puede incorporarse a la solución en forma de iones fosfatos durante un tiempo compatible con las posibilidades de extracción del P por un vegetal en crecimiento".

El método de la cinética de intercambio  $^{32}\text{P}$  con sistemas estacionarios permite definir los factores intensidad (concentración de P en la solución de suelo), cantidad y capacidad por medio de los iones transferibles de la fase sólida a la fase líquida en unos minutos, diez minutos, ciento minutos, un día, tres meses, un año sin por ello aportar precisiones sobre el origen del P solubilizado que puede provenir de la mineralización de la materia orgánica o de la solubilización de los minerales los más solubles. La síntesis más reciente sobre el tema (Morel *et al.*, 1999) da una buena idea de los alcances y de los límites de los métodos de estimación de la "disponibilidad" del P por dilución isotópica.

Estos métodos exigen materiales especiales y una gestión de laboratorio específica, debido a la manipulación de sustancias se marcadas por isótopos radioactivos.

Para obtener una gran precisión, es necesario eliminar el de partículas en suspensión, lo que obliga a centrifugar más a 100.000 g o de filtrar sobre membranas de 0,2 m y a veces más finas aún.

Las medidas se efectúan sin modificar el estado del sistema y permiten evaluar formas muy transitorias. Entre los equipamientos indispensables que deben aislarse de las otras actividades del laboratorio sin radioactividad es necesario prever un contador de centelleo líquido, una ultracentrifugadora 120.000 g. Para el detalle de las modalidades operativas, se referirá a Fardeau (1988-1993) y Gachon (1988).

## Retención del fósforo

### Introducción

El cultivo de un suelo causa la exportación de P por las cosechas y a plazo más o menos largo, un empobrecimiento en formas de P utilizables por los cultivos. La adición de abono permite mantener temporalmente un nivel satisfactorio de P disponible para la planta y regularizar los flujos de fósforo hacia la solución del suelo. Para equilibrar las contribuciones en abonos fosfatados, es necesario conocer el nivel de las exportaciones, y también la capacidad de un suelo retener el P y también devolverlo. No se debe olvidar que el 95% de los abonos fosfatados que fueron esparcidos en los suelos cultivados durante el siglo pasado todavía están allí almacenado y nunca fueron utilizados por los cultivos sucesivos.

La movilidad del fósforo en los sistemas suelo-planta depende en primer lugar de factores físico-químicos más que biológicos. Por ello, se privilegian los métodos físico-químicos de apreciación de su accesibilidad a las biomásas vegetales. En la Figura AA9 se muestra la fijación en el suelo y disponibilidad de fosfatos para las plantas en función del pH.

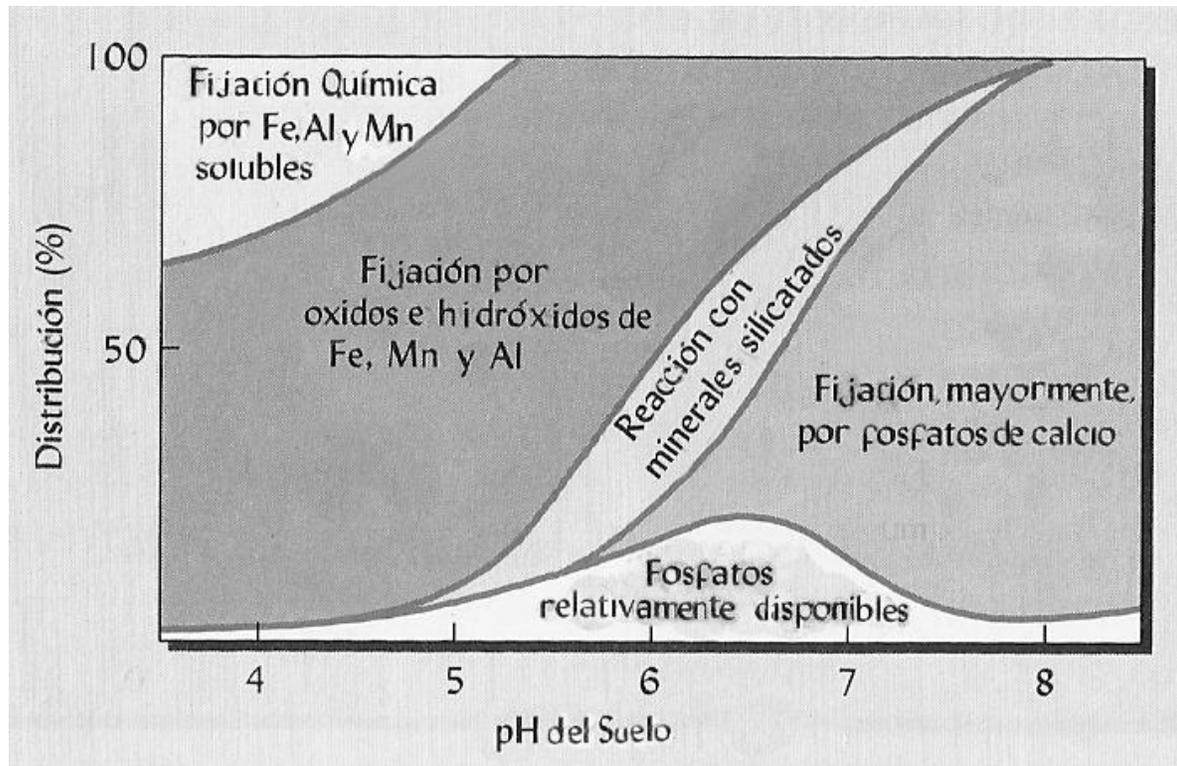


Figura AA9. Fijación en el suelo y disponibilidad de fosfatos para las plantas en función del pH (Brady y Weil, 2008).

Los aniones pueden ocupar lugares de intercambio y participar en la capacidad de intercambio aniónica. Esta capacidad es, en general, muy inferior a la CIC >> CEA. La CEA depende del pH del suelo, del nivel de electrólitos y el tipo de arcilla.

La serie de aniones por grado de solubilidad creciente:  $\text{SiO}_4^{4-} > \text{PO}_4^{3-} \gg \text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- \cong \text{Cl}^-$  demuestra que  $\text{SiO}_4^{4-}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  se fijan mucho en los suelos ácidos como consecuencia de las conexiones de  $\text{PO}_4^{3-}$  con los Al en posición octaédrica.

Mientras más bajo es el pH, mayor será la concentración en cationes polivalentes (Al, Fe, Mn) y la retención de P también será mayor. Este proceso conduce a la aparición en el suelo de la variscita ( $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) y del strengita ( $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) insolubles.

En condiciones alcalinas, los fosfatos reaccionando con las distintas formas de Ca (carbonatos) dan fosfatos de Ca insolubles que plantean serios problemas para el cultivo de los suelos áridos carbonatados.

Es pues necesario conocer el nivel de retención de P del suelo, determinar índices de adsorción, y establecer los isotermos de adsorción según las ecuaciones de Lang-Muir o Freundlich. Se pueden así clasificar los suelos según sus características de adsorción y conectar las cantidades de P fijado en g por m<sup>2</sup> y la concentración de la solución del suelo al equilibrio.

### Determinación de la retención de P

#### Principio

El método descrito aquí es el de Blakemore *et al.* (1981): equilibrado de una muestra con una solución que contiene P soluble y medida del fosfato restante en solución. A pH 4,6, la retención de P es próxima al máximo posible.

#### Equipos e instrumentos

- Centrifugadora
- Agitador
- Espectrofotómetro UV- visible

#### Reactivos

- Agua desmineralizada
- Solución de retención P (1.000 ppm P): disolver 8,79 g de fosfato monopotásico, 32,8 g de acetato de sodio anhidro en alrededor de un litro de agua; añadir 23 mL de ácido acético puro; traer a volumen en un frasco de dos litros con agua desmineralizada.

#### Procedimiento

- Pesar 5 g de suelo seco tamisado a 2 mm. Colocar en un tubo de centrifugadora de 50 mL con tapa de roca; añadir 25 mL de solución retención de P y agitar 24 horas a 20°C
- Centrifugar a 5.000 g durante quince minutos;
- Filtrar, homogenizar y tomar un alícuota para la valoración de P que permanece en la solución, y una alícuota idéntica del reactivo que sirve de referencia para el cálculo.

#### Cálculo

- Preparar una curva de retención P/absorción espectrocolorimétrica;
- La retención P se evalúa en % del P añadido.

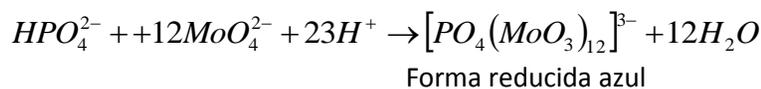
## Dosificación de P por espectrofotometría uv visible de los complejos fosfomolibdicos y fosfovanado molybdicos

Este método, a menudo se utiliza para la dosificación de P en los extractos de P Total, de P orgánico total o de "Retención P" cuyo contenido es elevado. Se proporcionan específicamente los ortofosfatos según la reacción de formación del complejo amarillo absorbente de 420 a 466 nm método muy conocido sin dificultad particular que no necesita más comentarios.

### Espectrofotometria del azul de molibdeno

#### Principio

La reacción al azul de molibdeno debe efectuarse en condiciones bien definidas de pH, de concentración en ácido, de potencial Redox, de temperatura, de tiempo de reacción para desplazar los equilibrios hacia las formas más condensadas, doce átomos de Mo al máximo pudiendo rodear el átomo de P la densidad óptica sigue siendo constante con esta composición. Sílice, arsénico y germanio sólo interfieren a elevado contenido. La reacción consiste en combinar el ácido molibdico con el fósforo orto. Esta condensación no puede efectuarse hasta en el medio ácido de elevada fuerza iónica. Un compuesto reductor, catalizado por el antimonyle tartrato, conduce a la formación del complejo intensamente coloreado azul del anión fosfomolibdico.



Nota: El potencial de óxidoreducción depende del pH. Es necesario pues estandarizar los métodos para tener una cantidad de ácido y de reductor lo más regular posible y una temperatura constante. La velocidad de formación del fosfomolibdato es proporcional a la concentración en P. Numerosos reductores minerales y orgánicos se han utilizado; el ácido ascórbico en asociación con el potasio antimonyl tartrato de potasio (Murphy y Riley, 1962) que ejerce un fuerte poder catalítico en medio ácido en frío, y permite obtener un complejo azul intenso presentando una meseta de estabilidad de las 24. La sensibilidad es menor en medio clorhídrico que en medio sulfúrico. La absorbancia es máxima al límite del espectro visible y el IR cercano: 880-890 nm.

#### Interferencias

Se puede substituir a veces un átomo central que tenga un radio iónico y propiedades vecinas de las del P como Si, As, Ti. Se obtienen compuestos del tipo  $(SiMo_{12}O_{40})^{4-}$ ,  $(AsMo_{12}O_{40})^{3-}$ , que alteran la colorimetría. Es necesario efectuar la reacción en medio suficientemente ácido para limitar la interferencia de Si y As en general poco dañinas.

Las interferencias pueden también provenir: de elementos que poseen sales coloreadas: la presencia de  $Cr^{3+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Ni^{4+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$  es tolerable hasta 1.000 ppm aproximadamente (la materia orgánica, aunque absorbiendo sobre otra longitud de onda, puede interferir reduciendo la transmisión y debe ser destruido), elementos susceptibles de precipitarse en el medio dando compuestos insolubles, elementos oxidantes que perturban la reacción de reducción, de algunos ácidos orgánicos que pueden acomplejar Mes (ácido oxálico y oxalatos, ácido tartárico y tartratos, ácido cítrico y citratos); cuando el grupo extraído por estos reactivos se analiza, es necesario destruir

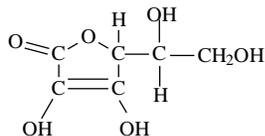
la matriz para evitar bloquear la reacción P-MO<sub>12</sub>, alcoholes en los cuales el potasio antimonyl tartrato es poco soluble y proteínas que pueden alterar la solución.

### Equipos e instrumentos

- Espectrofotómetro uv - visible (350 – 800 nm)
- Cuveta de 1 cm de plástico o vidrio. (10 cm si se requiere aumentar sensibilidad).

### *Reactivos*

- Ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,5 mol L<sup>-1</sup>: añadir con precaución 140 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en 900 mL de agua desmineralizada; dejar enfriarse y medir a 1.000 mL
- Solución de molibdato de amonio: pesar 20 g de (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> y disolver en 500 mL de agua desmineralizada (esta solución debe rehacerse cada semana)
- Solución antimonyl tartrato de potasio hemihidrato KSbOC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · 0,5H<sub>2</sub>O (PM=333,93): pesar 1,375 g de antimonyl tartrato de K y disolver en 500 mL de agua (rehacer cada semana).
- Solución de ácido ascórbico;



- : disolver 8,75 g de ácido ascórbico en 500 mL de agua desmineralizada (preparar cada día);
- Reactivo mixto que debe rehacerse cada día. Mezclarse en el orden agitando y homogenizando entre cada adición: 165 mL solución H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,5 mol L<sup>-1</sup>, 150 mL solución molibdato de amonio, 100 mL solución ácido ascórbica, 16 mL solución antimonyl tartrato de potasio, completar a 100 mL con agua desmineralizada.

### Patrones fosfatos

Para cada tipo de extracto, es preferible realizar curvas patrones normales con la misma matriz de análisis que las muestras que deben analizarse y realizar sistemáticamente dos controles: un blanco idéntico a todos los tratamientos de las muestras (filtración, agitación, calefacción). Las curvas patrón son rehechas a menudo y comparadas entre ellas para detectar toda deriva temporal, o eventualmente modificaciones que podrían disminuir la precisión de las determinaciones.

- Solución-madre a 100 µg(P) mL<sup>-1</sup>: disolver 0,4393 g de Fosfato de Potasio dihidrogeno (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y diluir a 1 L; 1 mL = 100 µg de P conservar en refrigerador a 4°C al refugio de la luz
- solución intermedia (A) a 10 g (P) mL<sup>-1</sup> (conservar al refrigerador una semana): tomar 100 mL de la solución madre y diluir a 1.000 mL
- solución intermedia (B) a 1 g (P) mL<sup>-1</sup>: tomar 100 mL de la solución intermedia (A) y medir a 1.000 mL (rehacer a cada utilización)
- gamas para las dosificaciones que deben modularse según los métodos: (a rehacer cada día). Volumen adaptado a los controles y al consumo por los aparatos a flujo segmentado, alrededor de 50 mL o 100 mL.

- Por ejemplo de gama: 0,0 (blanco) 0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 - 1,0 - 2,0  $\mu\text{g(P)}\text{mL}^{-1}$

### Procedimiento

Pipetear exactamente V0 mL de la solución de extracción de la muestra que contiene entre 10 y 20 g de P o, en general, del alícuotas de 1 a 15 mL como máximo (para las extracciones agua, resina o  $^{32}\text{P}$  isotópico, el alícuota es importante. Para los métodos que extraerán formas móviles en medio ácido o básico, el alícuota será más reducido. Para las formas totales, una dilución intermedia puede ser necesaria).

Hacer pasar el alícuota en un frasco medido de 25 mL; añadir 5 mL de reactivo mixto y completar a 25 mL con agua desmineralizada; homogenizar; esperar 30 minutos para alcanzar la estabilización necesaria para la dosificación (estable alrededor de 24 horas).

Pasar al espectrofotómetro y medir la absorbancia a 690 nm con una cuveta de 10 mm. (o más larga según la intensidad del color desarrollado (una de 100 mm. para los extractos agua por ejemplo); operar de la misma forma para cada punto de la gama patrón.

Establecer un gráfico que lleva en abscisa la concentración en P y en ordenada, la absorbancia; determinar P presente. Si V es el volumen (mL) de la solución de extracción, p el peso de toma de suelo (g) y f el posible factor de corrección para expresar los resultados con relación al suelo secado a 105°C, el contenido del suelo se expresa por:

$$C = f \times \frac{V}{p}$$

en mg (P)  $\text{kg}^{-1}$  de suelo seco (25 °C) =  $2,29 f x V/p$  (en  $\text{mg(P}_2\text{O}_5)\text{kg}^{-1}$ )

$$f = \frac{A - a}{b}$$

A = absorbancia; a = corte de la recta de calibración en el eje Y y b es la pendiente de dicha curva.

### **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

- Blackemore, L.C., P. L. Searle y B. K. Daly. 1981. *Methods for chemical analysis of soils*. N.Z. Soil Bur. Sci., Rep. 10A.
- Brady, N. C. y R. R. Weil. 2008. *The nature and properties of soils*. 14 th. Ed. Pearson Education Inc., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Dean, L. A. 1947. Application of radioactive tracer technique to studies of phosphatic fertilizer utilization by crops. I - Greenhouse experiments. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 12, 107-112.
- Fardeau, J. C. y J. Jappe. 1988. Valeurs caractéristiques des cinétiques de dilution isotopique des ions phosphate dans les systèmes sols-solution. In *Phosphore et Potassium dans les relations sol-plante, conséquence sur la fertilisation*, Gachon L. ed. Lavoisier-INRA, 79-99.
- Fardeau, J. C. 1993. Le phosphore assimilable des sols : sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agronomie*, 13, 317-331.
- Fardeau, J. C. 1997. Biodisponibilité du phosphore dans les sols, les déchets et les sédiments : des approches isotopiques. In *Le phosphore dans les sols, les déchets et les eaux*, AFES, Journées thématiques de Mars.

- Gachon, L. 1988. *Phosphore et Potassium dans les relations sol-plante, conséquence sur la fertilisation*. Lavoisier-INRA, 79-99.
- Gunnarson, O. y L. Frederickson. 1951. A Method for determining plant available phosphorous in soil by means of  $^{32}\text{P}$ . *Proc. isotope technical conf.* Oxford, 1, 427-431.
- Murphy, J. y J. P. Riley. 1962. A modified simple solution method for the determination of phosphates in natural waters. *Anal Chim. Acta*, 27, 31-36.
- Tan, K. H. 1996. *Soil Sampling, Preparation and Analysis*, Marcel Dekker Inc., New York. Cap. 9, pag. 123 - 130

## BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA

- Bell, B. C. y C. A. Black. 1970. Comparison of methods for identifying crystalline phosphate produced by interaction of orthophosphate fertilizers with soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 579-582.
- Bray, R. H. y L. T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.*, 59, 39-45.
- Chang, S. C. y M. L. Jackson. 1957. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Sci.*, 84, 133-144.
- Dabin, B. 1967. Application des dosages automatiques à l'analyse des sols (3<sup>o</sup> partie) - 3. Analyse du phosphore assimilable dans les sols tropicaux. *Cah. Orstom Ser. Pédol.*, V, 278-286.
- Dalal, R. C. y E. G. Hallsworth. 1976. Evaluation of the parameters of soil phosphorus availability factors in predicting yield response and phosphorus uptake. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 40, 541-546.
- Demolon, A. 1932. *La dynamique du sol*. Dunod, 262.
- Dyer, B. 1894. On the analytical determination of probably available mineral plant food in soils. *J. Chem. Soc.*, 65, 115-167.
- El Zahaby, E. M. y S. H. Chien. 1982. Effect of small amounts of pyrophosphate sorption by calcium carbonate and calcareous soil. *Soil Sci. Soc. Am. P*; 46, 38-46.
- Freeman, J. S. y D. L. Rowell. 1981. The adsorption and precipitation of phosphate on calcite. *J. Soil Sci.*, 32, 75-84.
- Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1978. *Méthodologies mécanisées – Introduction à l'automatisation des opérations analytiques dans les sols, les végétaux et les eaux d'irrigation*. IRD (ex-Orstom), Guadeloupe, Paris, Notes laboratoire, 113 p.
- Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1989. Dosage du phosphore ortho. la réaction céruléo molybdique. *Orstom - Journées laboratoires*, 134-154.
- Gautheyrou, M., J. Gautheyrou y P. Quantin. 1990. La spectroscopie RMN haute résolution de  $^{31}\text{P}$  - Etude des formes de phosphore d'un Andosol soumis à l'écobuage. *Actes Congrès Int. Sci. du Sol*, Kyoto, Japan.
- Hedley, M. J., W. B. Stewart y B. S. Chauhan. 1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorous fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46, 970-976.
- Henstra, S. D., A. Eijk van der, Boekestein, F. Thiel y L. Plas van. 1981. Compositional change in triple superphosphate fertilizer granule. *Scanning Electron Microscopy*, 1, 439-446.
- Joret, G. y J. Hebert. 1955. Contribution à la détermination du besoin des sols en acide phosphorique. *Ann. Agron.*, 2, 233-299.
- Karlson, U. Jr. y W. T. Frankenberger. 1987. Single column ion chromatography. III - Determination of orthophosphate in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51, 72-74.
- Larsen, S. 1952. The use of  $^{32}\text{P}$  in studies on the uptake of phosphorous by plants. *Plant and Soil*, 4, 1-10.

- Mehlich, A. 1953 *Determination of P, Ca, Mg, K, Na, NH<sub>4</sub>*. North Carolina Soil Test Division, Rapport multigraphié.
- Mehta, N. C., J. D. Legg, C. A. Goring y C. A. Black. 1954. Determination of organic phosphorous in soil. 1. Extraction method. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 18, 443-449.
- NF X31-160. 1993. Détermination du phosphore soluble dans une solution à 20 g L<sup>-1</sup> d'acide citrique monohydraté. In *Qualité des sols 3°* ed. 1996, AFNOR, 147-154.
- NF X31-161. 1993. Détermination du phosphore soluble dans une solution d'oxalate d'ammonium à 0,1 mol L<sup>-1</sup>. In *Qualité des sols 3°* ed. 1996, AFNOR, 157-165.
- Roche, P., L. Grière, D. Babre, H. Calba y P. Fallavier. 1978. La carence en phosphore des sols intertropicaux et ses méthodes d'appréciation. *Science du sol*, 4, 251-268.
- Ruf, F. 1966. The conditions for spectrophotometric determination of orthophosphate with molybdovanado phosphate. *C.R. Geol. Com. Nat. Malgache Geol*, 70, 4.
- Salvage, T. y J. P. Dixon. 1965. The colorimetric determination of phosphorus in organic compounds on the microgram scale. *Analyst G.B.*, 90, 24-28.
- Schwertmann, U. 1964. The differentiation of iron oxide in soils by a photochemical extraction with acid ammonium oxalate. *Z. Pflanzenenahr. Dueng Bodenkd*, 105, 194-292.
- Subbarao, Y. V. y R. Ellis. 1975. Reaction products of polyphosphates and orthophosphates with soils and influence of uptake of phosphates by plants. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39, 1085-1088.
- Syers, J. K., G. W. Smillie y J. D. H. Williams. 1972. Calcium fluoride formation during extraction of calcareous soils with fluoride. I - Implications to inorganic P fractionation schemes. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36, 20 -25.
- White, R. E. y P. T. Beckett. 1964. Studies on phosphate potentials of soils. 1 - The measurement of phosphate potential. *Plant and Soil*, 20, 1-16.
- Williams, J. D. H., J. K. Syers y T. N. Walker. 1967. Fractionation of soil inorganic phosphate by a modification of Chang and Jackson's procedure. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 31, 736.

#### **CRONOBIBLIOGRAFÍA DEL TEMA "FÓSFORO"**

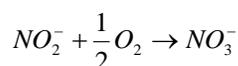
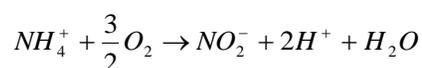
- Kurtz, L. T. 1942. Elimination of fluoride interference in molybdenum blue reaction. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, 14, 855.
- Palache, C., M. Berman, y C. Frondel. 1951. *The systems of mineralogy*. Wiley-Chapman.
- Olsen, S. R. 1952. Measurement of surface phosphate on hydroxylapatite and phosphate rock with radiophosphorus. *J. Phys. Chem.*, 56, 630-632.
- Nelson, W. L., A. Mehlich, y E. Winters. 1953. The development, evaluation and use of soil tests for phosphorus availability. Nr.4. En: Pierre W.H. y A. G. Norman. (ed.) *Soil and fertilizer phosphorus*, A.S.A.
- Watanabe, F. J. y S. R. Olsen. 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO<sub>3</sub> extracts from soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29, 677.
- Lehr, J. R., E. H. Brown, A. W. Frazier, J. P. Smith y R. D. Thrasher. 1967. Crystallographic properties of fertilizer compounds. *Chem. Eng. Bull.* (Alabama, USA) N°6.
- Fox, R. L. y E. J. Kamprath. 1970. Phosphate sorption isotherms for evaluating the phosphate requirements of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 902-907.
- Povarennykh, A. S. 1972. *Crystal chemical classification of minerals*. Plenum Press, Vol. I y II.
- Franzen, D. W. y T. R. Peck. 1995. Spatial variability of plant analysis phosphorus levels. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26, 2929-2940.
- Frossard, E., M. Brossard, M. J. Hedley y A. Metherel. 1995. Reactions controlling the cycling of P in soils. In *Phosphorus in the global environment*. Wiley, 107-137.

- Fardeau, J. C., D. G. Guiraud y C. Morel. 1996. The role of isotopic techniques on the evaluation of effectiveness of P fertilizers. *Fert. Res.*, 45, 101-109.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. pp. 869-919. En: Bigham, J.M. y J. M. Bartels. (eds) *Methods of soil analysis, part 3, chemical methods*, SSSA-ASA, Madison, WI, USA.
- Condon, H. J. y L. M. E. Frossard. 1997. Isotopes techniques to study phosphorus cycling in agricultural and forest soils : a review. *Fert. Res.*, 24, 1-12.
- Morel, C., H. Tunney, D. Plenet y S. Pellerin. 1999. Transfer of phosphate ions between soil and solution. Perspectives in soils testing. *Journal of environmental quality* 29, (1) 50-59
- Isik, Y. y H. Ekiz. 2000. The phosphorus demand of durum wheat grown in Konya and the calibration of Olsen phosphorus analysis. Konya yoresinde yetistirilen makarnalik bugdayin fosforlu gubre istegi ve Olsen fosfor analiz metodunun kalibrasyonu. Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Bahri Dagdas International Winter Cereals Research Center; Konya, Turkey. pp. 230-239.

## TOXICIDADES (ALUMÍNICA Y OTRAS)

### Introducción: Recordatorios teóricos

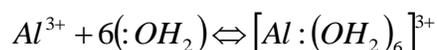
La acidez de intercambio, que aparece en el suelo durante procesos pedogenéticos, puede considerarse como una alteración de las superficies de intercambio. La arcilla puede sufrir una hidrólisis (acidolysis, acidocomplexolysis) que causa una desestabilización de la red 2:1, una parte de los cationes  $Al^{3+}$  en posición octaédrica pasa en posición externa e intercambiable. Por lo tanto, los cationes cambiables de superficie disminuyen y progresivamente, el aluminio va a dominar las cargas negativas, el pH del suelo se reduce hacia 4,0 y fenómenos de disolución no congruente pueden producirse. La aplicación iterativa de fertilizantes acidificantes (como la urea durante los ciclos culturales, las lluvias ácidas acompañando las emisiones de combustibles fósiles pueden acelerar la alteración de los suelos). Por ejemplo, con abonos nitrogenados, se tiene producción de protones en la nitrificación:



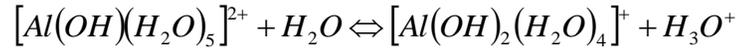
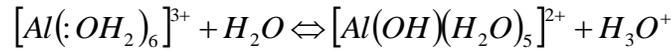
El proceso global será:



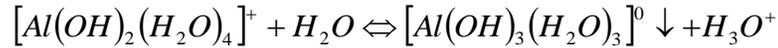
Si se trata la muestra por una solución de electrólito no tamponeada, como KCl, los iones  $Al^{3+}$  se intercambian y pasan a la solución (pH < 5) donde pueden hidrolizarse liberando protones (ácido Brönsted). El ion  $Al^{3+}$  (ácido Lewis) en medio acuoso se encuentra coordinado con 6 moléculas de agua (base Lewis) según:



Se produce a continuación una hidrólisis ácida progresiva a pH creciente según:



Entre pH 5 – 8 el hidróxido de aluminio precipita según:

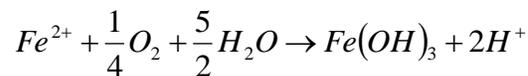
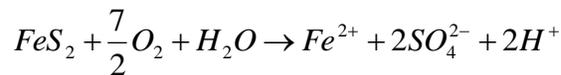


En medio alcalino a pH > 8 el hidróxido insoluble se solubiliza por formación de iones aluminato según:

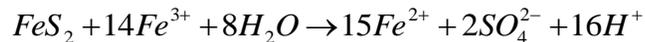


A pH < 4, las formas monómeras ( $Al^{3+}$ ) son las más abundantes mientras que entre pH 4 y 5 formas poliméricas hydroxy alumínicas, ( $Al(OH)^{2+}$ ), dominan progresivamente.

Los compuestos orgánicos liberan protones y en los suelos ácidos que contienen formas reducidas del azufre (manglares, suelos orgánicos con hydromor), la acidez podrá proceder de reacciones de oxidación al contacto del aire:



Debajo de pH 4,5 la actividad microbiana de Thiobacillus ferrooxidans es fuerte y aumenta el fenómeno de acidificación según la reacción:



El  $Mn^{2+}$  puede presentar, en medio reductor debajo de pH 5,5, una fitotoxicidad que se añade a la de  $Al^{3+}$ .

La acidez de intercambio se distingue de la acidez libre que proviene de la concentración de los iones  $H^+$  en la solución del suelo y representa una parte de la acidez potencial que agrupa funciones ácidas más o menos ionizadas, algunos ácidos orgánicos y cationes fácilmente cambiables.

La acidez potencial puede medirse por volumetría neutralizando las cargas por una base fuerte. La acidez potencial es una de los componentes principales del efecto tampón del suelo. La acidez

llamada "extraíble", determinada a pH 8,2 con el reactivo BaCl<sub>2</sub>- trietanolamina, puede asimilarse en base a las cargas variables o sea dependientes del pH.

### Análisis de las formas tóxicas del Aluminio

Para el taxonomía de los suelos, se considera que el extracto KCl 1 mol L<sup>-1</sup> sólo incluye Al<sup>3+</sup>, AlOH<sup>2+</sup>, Al(OH)<sub>2</sub><sup>+</sup> y H<sup>+</sup> cambiables, descartando la idea que los productos eventualmente solubilizados no cambiables (distintos precipitados amorfos, hydroxypolímeros, gibbsita, fosfatos de Al, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, entre otros) pueden también contribuir a sobre estimar la toxicidad alumínica y por consecuencia el encalado.

La acidez actual de un suelo se mide en moles de protones titulables por unidad de masa (esta acidez de intercambio a veces es llamada acidez desprendible por sales). En la práctica, arriba de pH 5,2, no hay más Al intercambiable porque ya precipitó a este pH. Es posible separar el Al intercambiable del Al no cambiante de manera unívoca por lixiviación con electrólitos fuertes trazando curvas de solubilidad acumulada (Skeen y Sumner, 1965), asumiendo como constantes las cantidades de Al no cambiante disueltas durante la extracción. La suma de las contribuciones a partir de estas fuentes es entonces asumida.

La acidez de intercambio por KCl se utiliza para la medida de la capacidad de intercambio catiónica efectiva, sumando los cationes cambiables extraídos al pH del suelo (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>). Una concentración de la solución de extracción, relativamente elevada de 1 mol L<sup>-1</sup>, es necesaria para tomar en cuenta los efectos de la capa difusa.

La medición de acidez de intercambio es importante en agronomía para determinar la fitotoxicidad alumínica que en general se correlaciona bastante bien al contenido en Al intercambiable.

Esta medida no constituye, sin embargo, un índice de toxicidad por si sola. En efecto, formas monomeras o poliméricas de hidróxidos de Al precipitado y la fuerza iónica de las soluciones del suelo, desempeñan un papel sobre el actividad biológica del Al, así que la eventual presencia de P y de Ca en la rhizoesfera. Es necesario también tomar en cuenta los genotipos de los vegetales presentes en este medio ambiente, algunos siendo más tolerantes al Al que otros. Puede ocurrir a menudo, para los suelos tropicales, que Al<sup>3+</sup> extractible por KCl no se correlacione al pH<sub>agua</sub>, algunos suelos con un pH vecino de 4 pudiendo contener menos Al cambiante que suelos a pH cercano de 5. En estos casos la correlación con el pH KCl es más satisfactoria. El ΔpH obtenido por pH<sub>KCl</sub> - pH<sub>agua</sub> puede ser un buen indicador de la inestabilidad de los minerales si esta divergencia es importante.

La relación (Al<sup>3+</sup>)/ CIC al pH del suelo) permite, para un cultivo dado, considerar los riesgos de fitotoxicidad de Al y la tolerancia de los vegetales. Espiau y Peyronnel (1976) proponen como expresión de acidez de intercambio:

$$A = \frac{A}{T_{efectiva}} \times 100$$

A = acidez de intercambio KCl  $N = Al^{3+} + H^{+}$  en  $cmol(+)kg^{-1}$

$$T_{efectiva} = CIC_{efectiva} + \sum \left[ (K^{+}, Na^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}) \frac{cmol(+)}{kg} \right]$$

La Tasa de Desaturación,  $TD$ , será entonces:

$$TD = \frac{T - S}{T} \times 100$$

( $T = CEC$ ,  $S =$  suma de los cationes cambiables). La medida de  $(T - S)$  al pH del suelo permite, en numerosos casos, un enfoque suficiente en rutina.

### Método

La muestra de suelo es percolada en columna con una solución de KCl 1M sin tampón que permite extraer la acidez cambiante ( $H^+$  y  $Al^{3+}$ ). La titulación es efectuada por volumetría ácido base con NaOH. Igualmente, el aluminio puede ser determinado por espectrofotometría de absorción atómica o por espectrometría de emisión en Plasma ICP.

### Reactivos

- Cloruro de potasio 1 mol L<sup>-1</sup>: pesar 74,56 g de KCl PA; disolverlo en 950 mL de agua permutada; dejar la temperatura equilibrarse al ambiente y completar a 1.000 mL
- Hidroxido de sodio 0,025 mol L<sup>-1</sup>: disolver 4 g de NaOH PA en pelotillas en agua permutada y completar a 1.000 mL después de enfriamiento; estandarizar con la solución de HCl; el almacenamiento se hace en frasco plástico fuera del contacto con el CO<sub>2</sub> del aire; rehacerla cada semana como mínimo; se pueden utilizar soluciones pre-tituladas en ampollitas pero averiguándolas
- Ácido clorídrico 0,025 mol L<sup>-1</sup>: prepararse a partir de una solución titulada en bombilla 0,1 mol L<sup>-1</sup> (controlar eventualmente por volumetría con patrones sólidos PA)
- Fenolftaleína: disolver 100 mg de fenolftaleína en 100 mL de etanol a 15°
- Fluoruro de potasio 1 mol L<sup>-1</sup> PA (o eventualmente NaF menos soluble, 40 g L<sup>-1</sup>): disolver 58,10 g de KF P.A en 950 mL de agua, y luego ajustar a 1000 mL.

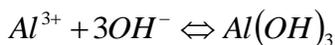
### Procedimiento

La humedad del suelo secado al aire se efectúa a parte sobre una muestra representativa para corregir los resultados a 105°C.

### *Extracción*

Se pesan 10 g de suelo tamizado a 2 mm en un beaker de 100 mL y se agregan 20 mL de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> y dejar en contacto 15 minutos agitando de vez en cuando. Se filtra sobre filtro analítico seco grano fino (azul); se recoger el filtrado en un frasco medido de 100 mL. Se añaden fracciones de 10 mL aproximadamente de KCl molar dejando cada vez en contacto 15 minutos; después de paso de la última fracción, completar a 100 mL y homogenizar. La duración total de la extracción debe estandarizarse en aproximadamente 120 a 150 minutos.

### Valoración de la acidez intercambiable



Tomar un alícuota de 25 mL en un Erlenmeyer de 250 mL; añadir 3 gotas de fenolftaleína y titular con NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup> hasta llegar a un color rosado pálido. Añadir una gota de fenolftaleína y esperar unos minutos; el color debe persistir; no titular hasta rosado vivo para limitar la precipitación de Al(OH)<sub>3</sub>. Se deben realizar 2 blancos en las mismas condiciones operatorias; conservar el producto de la reacción para proporcionar Al por titrimetría.

### Cálculo

$$V_{Neto}(NaOH) = V_{NaOH}(0,025N) - V_{blanco}$$

$$Al \left( \frac{meq}{100g_{ss}} \right) = V_{Neto}(NaOH) mL \times 0,025 \frac{meq}{mL} \times \frac{100mL}{25mL} \times \frac{100g_{ss}}{10g_{ss}}$$

$$AI = \frac{100 \times (x - y) \times M \times A \times F}{p}$$

AI = acidez de intercambio en cmol (H<sup>+</sup>) kg<sup>-1</sup>

p = peso de suelo secado al aire

x = mL NaOH utilizados para la dosificación

y = mL NaOH utilizados para el blanco

M = molaridad de NaOH

A = factor alicuota (= 4)

F = factor de corrección para expresar en suelo secado 105° C

### Observaciones

- La expresión de los resultados con relación al suelo secado 105°C es necesaria para los suelos que contienen muchos óxidos e hidróxidos, o aluminosilicatos de tipo alofánico, debido a la fuerte humedad residual muy variable de los suelos "secados al aire", con el fin de obtener una comparación aceptable con otros resultados analíticos;
- La presencia de óxido de hierro puede causar errores: si el extracto es coloreado por el hierro, será necesario efectuar la dosificación al mismo tiempo que el de Al por EAA o EEA ICP.
- La presencia de materias orgánicas solubles puede interferir las dosificaciones por volumetría.

### Otros métodos de determinación de la toxicidad aluminica

El déficit de carga varía en función del medio de extracción (naturaleza y concentración del electrolito, pH); lo ideal sería extraer al pH del suelo con una fase líquida idéntica a la solución del suelo.

Se experimentaron numerosas sales para determinar selectivamente el aluminio cambiante; o medios sin buffer a distintas concentraciones que reaccionan a un pH próximo del suelo, o de los medios regulados a distintos pH.

Entre las sales no tampón: KCl, NaCl y BaCl<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> (Skeen y Sumner, 1967), LaCl<sub>3</sub> (Bloom, 1979), CuCl<sub>2</sub> (Juo y Kamprath, 1979). Entre las sales tamponadas, los acetatos de K, Na, La, Cu con distintas concentraciones de 0,2 mol L<sup>-1</sup> a 1 o 2 mol L<sup>-1</sup>.

Todos estos reactivos permiten la extracción de distintas formas de Al<sup>3+</sup>: Al intercambiable, Al asociado a la materia orgánica, Al interfoliar, polímeros hydroxy -Al no intercambiable.

El método KCl mas arriba descrito, de utilización simple, parece presentar los mejores resultados, pero el método al bario es útil para estudios más diversificados (Pratt y Bair, 1961; Skeen y Sumner, 1965; Espiau y Peyronnel, 1976; Gillman, 1979; Espiau y Pedro, 1980). Así pues, la acidez cambiante en un extracto al cloruro de bario es objeto de la norma NF ISO 14254 (1997), la extracción que permite también una determinación de la capacidad de intercambio catiónica efectiva y de los cationes cambiantes (NF ISO 11260, 1994).

### **Trazas y contaminantes**

Como para los elementos principales, la concentración de los elementos trazas en los suelos (Baize, 1997) deriva a menudo de la roca madre, pero con fuertes irregularidades, la influencia de la roca madre no es siempre preponderante. Los suelos pueden también proceder de rocas madres alóctonas heterogéneas.

### Cantidades detectadas

El Cuadro AA17 presenta las concentraciones encontradas para algunos elementos en estado de trazas en los suelos. Algunos elementos como el cromo, el vanadio, el cinc, tienen un contenido generalmente bien correlacionado con la de la roca madre.

Otros como el boro, el cobalto, el molibdeno, son más bien característicos del tipo de suelo. Algunos como el yodo y el plomo, pueden encontrarse en concentración mucho más elevada en los suelos que en las rocas (especialmente en los depósitos sedimentarios de origen marino para el yodo). Los suelos orgánicos pueden tener fuertes enriquecimientos en algunos elementos como el selenio.

En función de los conocimientos sobre el tipo de suelo y roca madre, el autor de un estudio geoquímico podrá sin embargo ubicar los valores de concentraciones que parecen demasiado elevados. Esto está a veces muy nítido para algunos elementos como el cobre, cuyo contenido generalmente se correlaciona bien con el tipo de suelo y la roca madre, pero donde se detectan fuertes excesos en la mayoría de los suelos de viñedos.

Otras veces, la distinción es más difícil. Es necesario entonces proceder a un estudio estadístico comparativo entre el contenido encontrado al lugar donde la contaminación se sospecha, y el contenido de muestras vecinas del mismo tipo de suelo y roca madre. El contenido depende también de las propiedades de intercambio de los elementos con el suelo.

Cuadro AA17. Concentración de algunos elementos trazas en los suelos (según Aubert y Pinta, 1971), elementos totales (mg kg<sup>-1</sup>), elementos fácilmente extractables (% de elementos totales)

Elemento	Tasa mínima mg kg <sup>-1</sup>	Tasa máxima mg kg <sup>-1</sup>	Tasa media mg kg <sup>-1</sup>	Fracción media fácilmente extractable (% de contenido total)	
B	1-2 (podzols Bielorussia)	250-270 (torba eutrófica, Israel)	20-50	0,1 a 10 o más (suelos salados)	(1)
Cr	Trazas	3 000-4 000	100-300	0,01 a 0,4 0,1 a 1	(2) (3)
Co	0,05 (podzols Rusia)	300 (Suelos vérticos Centrafrica)	10-15	0,5 a 50	(2)
Cu	trazas	200-250 (Suelos vérticos India)	15-40	0,3 a 21	(3)
				0,05 a 5	(2)
				7 a 17	(4)
				18 a 60	(5)
I	0,1 (suelos hidromórficos, China)	25 (suelos húmicos Lettonia)	1-5		
Mo	trazas	24 (suelo pardo forestal, Rusia)	1-2	2 a 20	(3, 2, 6)
Ni	trazas	>5 000 (horizontes indurados, Nueva-Caledonia)		2	(2)
				7 a 20	(5)
Pb	trazas	1 200 (podzols, Canada)	15-25	1 a 30	(2)
Se	0,1	1 000 (suelo turboso,	1-7		
V	trazas	400	100-200	0,4 a 0,6	(2)
Zn	trazas	900	50-100	0,2 a 20	(3)
Li	5	200			
Rb	10	500			
Ba	100	3 000	500		
Sr	50	1 000	350		
Ga	2	100	30		

Reactivos de extracción: 1 = agua caliente, 2 = CH<sub>3</sub>COOH 2,5% pH 2,5, 3 = CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> N, pH 7, 4 = EDTA, 5 = HCl N, 6 = solución tampón ácido oxálico-oxalato NH<sub>4</sub> pH 3,3 (reactivo de Grigg)

### Elementos bioqenos y tóxicos

Aunque formando parte de los elementos mayores y trazas de los suelos, conviene examinar aparte estos elementos que tienen una gran importancia para la vida sobre el planeta, y cuyo análisis en los suelos es a menudo necesario.

En el caso de las contaminaciones orgánicas, las moléculas de origen antrópica no están generalmente presentes en el suelo original. Pueden definirse y cuantificarse pues, con dificultad a veces, pero sin dudas sobre su origen. No es así con los elementos minerales para los cuales no es siempre fácil hacer la distinción entre un origen geológico o antrópico (Bourrelier y Berthelin, 1998).

En los suelos, estos elementos minerales se encuentran o en forma de trazas (Cu, Zn, B, Mo) o como elementos mayores (Fe, Mg, Mn). La disponibilidad depende de la concentración, y también del

ambiente físico-químico de los materiales: mineralogía, materias orgánicas, pH, potencial Redox, cargas de los coloides, capacidad de intercambio catiónico y aniónico.

Además de los principales elementos minerales de los tejidos vegetales (P, S, K, Ca, Mg y a veces Na en acumulación excepcional), otros elementos son tan necesarios para la fisiología vegetal, esencialmente Cu, Fe, Mn, Zn, B y Mo aunque presentes en los tejidos celulares con contenidos a menudo muy escasos (oligoelementos), que pueden variar de algún  $\text{mg kg}^{-1}$  a algunos  $\text{g kg}^{-1}$  de materia seca, pueden a veces provocar carencias que pueden inhibir el crecimiento de las plantas. Al contrario, una disponibilidad demasiado grande causa a menudo fenómenos de toxicidad (Coppenet y Justo, 1982; de Abo, 1984). Es pues esencial conocer bien la concentración y la disponibilidad para las plantas de los oligoelementos.

Algunos oligoelementos son importantes como trazas aún más significativas para los organismos vivos (de Baize, 1997). Para citar algunos ejemplos, el cobalto es necesario para los animales ya que desempeña un papel en la formación de la hemoglobina; puede existir una anemia en los bovinos y ovejas en presencia de falta de Co en algunos suelos y por lo tanto, en las plantas.

El yodo es un elemento importante para los seres humanos, ya que entra en la composición de la hormona tiroidea y su ausencia causa la aparición del bocio, enfermedad antes extendida en las regiones de suelos privados de yodo y donde la población no tiene oportunidad de consumir pescado de mar.

El molibdeno tiene un papel bioquímico importante para las plantas y los animales que se alimentan. Se produce, en particular, en el ciclo del nitrógeno facilitando la reducción de  $\text{NO}_2$  en  $\text{N}_2$  y la fijación simbiótica por los nódulos; el vanadio tiene un papel similar. El selenio puede ser acumulado por las plantas y volverse tóxico para el ganado.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

- Bloom, P. R. 1979. Titration behavior of aluminum organic matter. *Soil Sci. Soc Amer. J.*, 43, 815-817.
- Espiau, P. y A. Peyronel. 1976. L'acidité d'échange dans les sols. Méthode de détermination de l'aluminium échangeable et des protons échangeables. *Sci. du Sol*, 3, 161-175.
- Espiau, P. y G. Pedro G. 1980. Caractérisation du complexe d'échange des sols acides. Le taux d'acidité d'échange et sa signification pédogénétique sous climat tempéré. *Ann. Agron.*, 31, 363-383.
- Gillman, G. P. 1979. A proposed method for the measurement of exchange properties of highly weathered soils. *Aust. J. Soil Research*, 17, 129-139.
- Juo, A. S. R. y E. J. Kamprat. 1979. Copper chloride as an extractant for estimating the potentially reactive Al pool in acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43, 35-38.
- NF ISO 14254. 1997. Détermination de l'acidité échangeable dans un extrait au chlorure de baryum, AFNOR, Paris, X31-422.
- NF ISO 11260. 1994. Détermination de la capacité d'échange cationique effective et du taux de saturation en bases échangeables à l'aide d'une solution de chlorure de baryum. *Qualité des sols*, AFNOR, Paris, 1996.
- Pratt, P. R. y F. L. Bair. 1961. A comparison of three reagents aluminium for the extraction of Aluminium. *Soil Sci.*, 91, 355-357.
- Skeen, J. B. y M. E. Sumner. 1965. Measurement of exchangeable Aluminium in acid soils. *Nature*, 208, 712.

## BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA

Pansu, M., J. Gautheyrou y J. Y. Loyer. 1998. *Analyse du sol - échantillonnage, instrumentation et contrôle*. Masson, Paris, 512 p.

## CRONOBIBLIOGRAFÍA DEL TEMA

Hissink, D. J. 1925. Base exchange in soils. *Trans. Far. Soc.*, 551-617.

Jackson, M. L. 1963. Aluminium bonding in soils: a unifying principle in soil science. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 27, 1-10.

Little, I. 1964. The determination of exchangeable aluminium in soils. *Australian J. Soil Res.*, 2, 76-82.

Rich, C. I. 1970. Conductometric and potentiometric titration of exchangeable aluminium. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 34, 31-38.

Sivasubramaniam, S. y O. Talibudeen. 1972. Potassium-aluminium exchange in acid soils. I - Kinetics. *J. Soil Science*, 23, 163-176.

Herbillon, A. J. 1974. Modifications des propriétés de charge provoquées par l'altération chimique. *Pédol.*, 24, 100-118.

Rouiller, J., B. Guillet y S. Bruckert. 1980. Cations acides échangeables et acidités de surface. Approche analytique et incidences pédogénétiques. *Science du Sol*, 2, 161-175.

Herbillon, A. J. 1981. Degree of weathering and surface properties of clays. In *Characterisation of soils in relation to their classification and management*, Greenland D.J. ed. Oxford Univ. Press, 5, 80-97.

Aleksandova, A. M., N. K. Krupskiy y Y. V. Daragan. 1983. The nature of soil acidity. *Pochvovedeniye*, 3, 34-43.

Gillman, G. P. y E. A. Sumpter. 1985. KCl-extractable aluminium in highly weathered soils. Is it exchangeable? *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 16, 561-568.

Logan, Kab., M. J. S. Floate y A. D. Ironside. 1985. Determination of exchangeable acidity and exchangeable aluminium in hill soils. Part I - Exchangeable acidity. *Soil Sci. Plant Anal.*, 16, 301-308.

Wagatsuma, T. y Y. Ezoé. 1985. Effect of pH on ionic species of aluminium in medium and on aluminum toxicity under solution culture. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 31, 547-561.

Manrique, L. A. 1986. The relationship of soil pH to aluminum saturation and exchangeable aluminum in ultisols and oxisols. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 17, 439-455.

Willoughby, E. J. 1986. A comparison of methods for measuring aluminium in KCl extracts of soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 17, 667-677.

Wagatsuma, T. y M. Kaneko. 1987. High toxicity of hydroxy-aluminum polymer ions to plant roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 33, 57-67.

Pansu, M., R. Gavinelli y P. Espiau. 1990. Etude de précision des mesures de l'acidité d'échange par KCl N dans les sols. In *Actes Journées laboratoires*, IRD (ex-Orstom), Paris, 114-126.

Bertsch, P. M. y P. R. Bloom. 1996. Aluminium. pp. 517-550. En: Bigham, J.M. y J. M. Bartels.(ed.) *Methods of soil analysis, part 3 Chemical methods*, SSSA, ASA, Madison WI, Etats-Unis.

Coscione, A. R., J. C. Andrade y B. de Raij. 1998. Revisiting titration procedures for the determination of exchangeable acidity and exchangeable aluminum in soils. *Communications-in-Soil-Science-and-Plant-Analysis*, 29, 1973-1982.

Derome, J. y A. J. Lindroos. 1998. Effects of heavy metal contamination on macronutrient availability and acidification parameters in forest soil in the vicinity of the Harjavalta Cu-Ni smelter, SW Finland, *Environmental-Pollution.*, 99, 225-232.

- Filep, G. y T. Filep. 1999. Characterization of forms of potential soil acidity. A potenciales talajsavanyusag formainak jellemzese, *Agrokemia es Talajtan.*, 48, 33-48.
- Dai, K. H. y D. D. Richter. 2000. A re-examination of exchangeable acidity as extracted by potassium chloride and potassium fluoride. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31, 115-139.

## CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO

### Principio

Las partículas coloidales en el suelo como las arcillas y el humus poseen grandes superficies específicas desde  $10 \text{ m}^2$  por gramo en el caso de una arcilla simple y bien cristalizada como la caolinita, hasta  $700 \text{ m}^2$  por gramo en el caso de algunas esmectitas y de los hidróxidos amorfos.

Las partículas de arcilla, por lo general, presentan cargas negativas permanentes (debidas a sustituciones iónicas dentro de la red cristalina) en su superficie mientras que las partículas húmicas y óxidos anfóteros de hierro y aluminio pueden presentar cargas variables tanto negativas como positivas. Las cargas negativas son neutralizadas por cationes (iones con carga positiva) los cuales son retenidos electrostáticamente a la superficie de estos coloides, por lo que reciben el nombre de *cationes adsorbidos*. Las cargas positivas dan origen al intercambio aniónico.

Estos cationes adsorbidos pueden ser reemplazados o intercambiados por otros cationes presentes en la solución de suelo en un proceso denominado *intercambio catiónico*, y los cationes involucrados en el proceso se les denomina entonces *cationes intercambiables*, entre los cuales se encuentran los iones hidrógeno, los iones calcio y magnesio así como los iones amonio y aluminio, entre otros. Por supuesto, para mantener la electroneutralidad, las reacciones de intercambio se dan en cantidades equivalentes.

La capacidad de intercambio catiónico, CIC es una medida cuantitativa y característica de cada tipo de suelo (según los tipos de arcillas presentes). La misma representa la medición de los cationes adsorbidos sobre las superficies de las arcillas. Esta es expresada en unidades de  $\text{meq} \times (100 \text{ g ss})^{-1}$ , pero en el SI es expresada en la unidad equivalente de  $\text{cmol}(+) \times (\text{kg ss})^{-1}$ .

### Acercamientos analíticos utilizados en la determinación de la CIC.

Dos conceptos distintos son usados en la determinación de la capacidad de intercambio catiónico de un suelo a saber:

- 1) La primera define la CIC como la suma de bases y protones intercambiables, por lo que el principio es el desplazamiento de los cationes intercambiables del suelo con un catión conocido. Los cationes desplazados son medidos y la suma en  $\text{meq} \times 100 \text{ g}$  de suelo se toma como la magnitud de la CIC.
- 2) La segunda define la CIC como la fracción del (o de los) catión desplazante adsorbido. En este caso el catión desplazante es conocido, pero este luego es a su vez intercambiado por otro catión. Se mide su concentración, la cual es tomada como el valor de la CIC.

Ambos acercamientos producen resultados diferentes básicamente por dos razones. En el primero de los acercamientos, las bases intercambiables y los iones hidrógeno se determinan por métodos distintos, mientras que en el segundo la CIC se obtiene de la cantidad adsorbida del ion desplazante directamente. Sin embargo, las cantidades adsorbidas del ion desplazante pueden ser un tanto distintas que la de los cationes que son desplazados. Es de esperar valores mayores de la CIC

por el primer acercamiento ya que las cantidades de iones hidrógeno desplazadas son mayores. Otra de las limitaciones del segundo acercamiento, radica en la necesidad de remover el exceso de ion desplazante por lavado, sin perturbar la fracción adsorbida, lo que por supuesto es difícil.

### Métodos utilizados para la determinación de la CIC

Se han desarrollado diferentes métodos para la determinación de la CIC y algunos de ellos utilizan NaOAc o BaCl<sub>2</sub> como sales desplazantes. Otros métodos utilizan NH<sub>4</sub>OAc, KOAc, Ba(OAc)<sub>2</sub> y BaCl<sub>2</sub> – trietanolamina. Sin embargo, el más utilizado es el NH<sub>4</sub>OAc a pH 7. (Schollenberger y Dreibelbis, 1933). En la Figura AA10 se muestra esquemáticamente la acción del ión amonio como agente desplazante de cationes intercambiables. La CIC determinada utilizando esta sal es utilizada como criterio en sistemas taxonómicos de suelo, como el americano (norma NF X 31-108 (1992)).

El método es confiable para la mayoría de los suelos, salvo en presencia de cantidades significativas de CaCO<sub>3</sub>, yeso, vermiculitas o micas hidratadas. En suelos que poseen cargas variables el método en medio tamponado a pH 7 puede dar resultados un poco elevados que en medio no tamponado. En suelos capaces de fijar iones potasio, el ion NH<sub>4</sub><sup>+</sup> puede reemplazar una parte del potasio fijado, se pueden obtener resultados muy elevados para el potasio intercambiable.

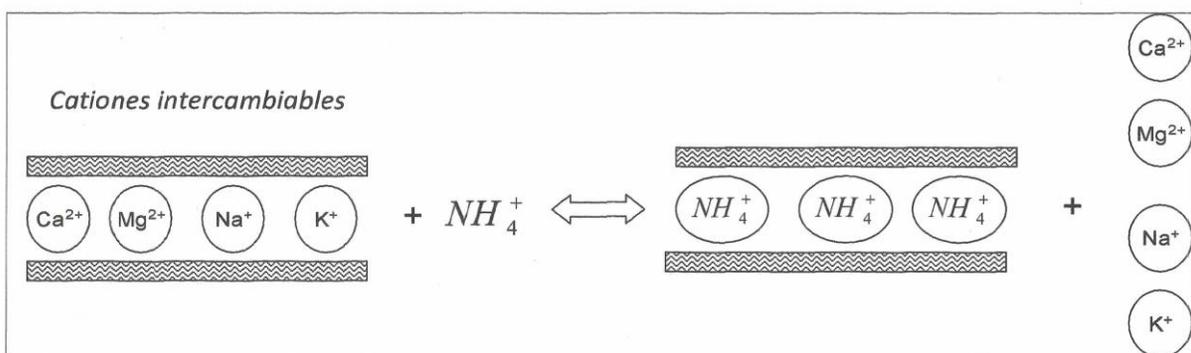


Figura AA10. Sustitución de bases intercambiables por los iones amonio.

En suelos oxídicos, dominados por cationes divalentes, es mejor la extracción de los cationes intercambiables con la solución de BaCl<sub>2</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> al pH del suelo para la determinación de la CIC efectiva (NF ISO 11260, 1994) o la solución de BaCl<sub>2</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> tamponada a pH 8,1 para la determinación de la CEC potencial (NF ISO 13536, 1995).

### Reactivos

- Solución de acetato de amonio 1 M, tamponada a pH 7: Pesar 77,084 g CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> grado analítico y disolver en un litro de solución con agua destilada, ajustando antes el pH a 7 con amoníaco o con ácido acético diluidos.
- Otra vía de preparación de esta solución es mezclando 58 mL de ácido acético glacial, diluido con unos 300 mL de agua destilada y 71 mL de solución de NH<sub>4</sub>OH de densidad 0,90 g mL<sup>-1</sup> también grado analítico. Se deja enfriar, se ajusta el pH a 7,00 agregando

hidróxido de amonio o el ácido acético diluidos. Finalmente se completa el volumen de la solución a un litro con agua destilada.

- Solución de cloruro de amonio 1 M: pesar 53,492 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  grado analítico y disolver en agua destilada hasta completar un litro de solución (el pH de la solución debe estar entre 4,5 y 5,0).

### Procedimiento

Se pesan 10 g de suelo fino y secado a  $105^\circ\text{C}$  en un beaker de 100 mL y se agregan 25 mL de solución extractante, se agita y se deja en reposo toda la noche. Se agita nuevamente, dejando decantar y luego filtrando la solución. Repetir tres veces esta operación dejando un tiempo de contacto de 15 minutos entre cada extracción; se mezclan las tres porciones de los extractos y se completa a 100 mL, homogeneizando la solución.

Los iones  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  se determinan bien sea por espectrofotometría de absorción o emisión atómica en llama o por espectrometría de emisión atómica en plasma ICP (Pansu *et al.*, 1998). Se debe realizar mediciones del blanco, analizando sólo el extractante para hacer la corrección de rigor. Los resultados se expresan en  $\text{cmol}(+) \times (\text{kg ss})^{-1}$ . Se efectúan dos controles por serie de determinaciones: una muestra de suelo testigo para verificar la estabilidad de la señal en el tiempo y una muestra de suelo duplicada, al azar, para la reproducibilidad en la serie.

Nota: La norma NF X 31-108 (1992) establece una sola agitación de una hora de las cantidades de muestras del ensayo con volúmenes indicados en el Cuadro AA18.

Cuadro AA18. Cantidades de muestra y volúmenes exigidos por la norma NF X 31-108 (1992)

<b>Cant. muestra (g)</b>	<b>Volumen solución de extracción, (mL)</b>	<b>Volumen recipiente (mL)</b>
5	100	125 a 150
10	200	250 a 300

En el caso de suelos salinos, si la conductividad sobrepasa los 0,5 mS, se hace necesario lavar el suelo para eliminar las sales solubles para que estas no interfieran en la determinación de los cationes cambiables. Se puede considerar que el complejo adsorbente está saturado con iones  $\text{Na}^+$ , pero la eliminación de las sales solubles modifica la distribución de los cationes intercambiables.

En el caso de suelos calcáreos o con presencia de yeso, el acetato de amonio provoca una solubilización de los carbonatos y sulfatos de calcio y magnesio. Si el contenido en carbonato de calcio es importante, se puede considerar que el complejo adsorbente está saturado por los iones calcio. Los métodos de extracción a pH 8 limitan los efectos de la disolución de los carbonatos.

Se puede utilizar una estrategia distinta la cual consiste en una doble percolación: la primera comprende teóricamente los elementos intercambiables más los elementos solubilizables, y la segunda los elementos solubilizados. Por diferencia se obtienen los elementos intercambiables. Este modo de operar con el acetato de amonio normal a pH 7 puede combinarse con la determinación de CIC  $\text{NH}_4^+$  donde ella constituye la fase inicial de saturación.

## CAPACIDAD DE INTERCAMBIO ANIÓNICO

### Principio

Las cargas positivas del suelo tienen por origen la ruptura de los planos foliares de arcillas, o de los óxidos de Fe y Al en posición externa o interfoliar. Estas cargas inducen una adsorción de aniones (Zelazny *et al.*, 1996).

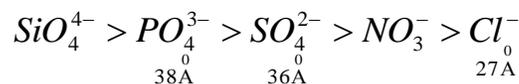
La capacidad de intercambio aniónico (CEA) se estudió poco antes de 1975. Se descuidó este aspecto en gran parte debido a la escasa influencia del anión en la mayoría de los suelos de las zonas templadas con relación a la de los cationes que entran en reacción con las superficies cargadas negativamente dando así relaciones CIC/CIA muy elevadas (Bingham *et al.*, 1965). La CIA se consideró durante mucho tiempo como una determinación menos importante que la CIC, ya que los distintos aniones implicados en estos intercambios en general no son retenidos por simple intercambio electrostático, pero por sistemas más complejos. Los aniones  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{ClO}_4^-$  son prácticamente los únicos cuyo intercambio es posible sin fijación selectiva, y la sustitución de un anión por otro anión de fuerza iónica y de tamaño similar sin cambiar la movilidad electroforética de las partículas.

Para las arcillas 1:1, y los hidróxidos de Fe y Al la CIC siendo relativamente baja, la influencia de la CIA es entonces más significativa, las partículas son pequeñas y presentan un nivel de desorden importante, los valores pueden variar de 1 a 10  $\text{mmol kg}^{-1}$  con relación  $\text{CIC/CIA} < 1$ .

Con los polyaniones, cuyas repercusiones económicas en agronomía son considerables ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ), la CIA no puede reflejar las formas cambiables. En efecto, a los fenómenos de intercambio vienen a añadirse fenómenos de precipitación de formas insolubles con el hierro, el aluminio, los alcalino-terrosos. La retención de  $\text{PO}_4^{3-}$  puede dividirse empíricamente en dos fracciones

- una fracción inestable extractable en medio ácido o básico, diluido; esta fracción puede ser puesta en solución por una multitud de métodos que se nombran, a menudo erróneamente, "fósforo asimilable para los vegetales" o simplemente "fácilmente disponibles" o "extractables";
- una fracción fijada por distintos mecanismos, en particular, por reprecipitación o inclusión en complejos; esta fracción puede ser determinada por análisis diferencial en un medio que satura el suelo por un exceso de fósforo: métodos llamadas "por retención".

Cuando no hay precipitación de sales insolubles, la serie de los aniones más corrientes en agronomía ordenados por tamaño decreciente es:



La Figura AA11 muestra un estudio de la adsorción de los aniones fluoruro, silicato y fosfato sobre la goethita en función del pH fenómeno muy importante en muchos suelos tropicales.

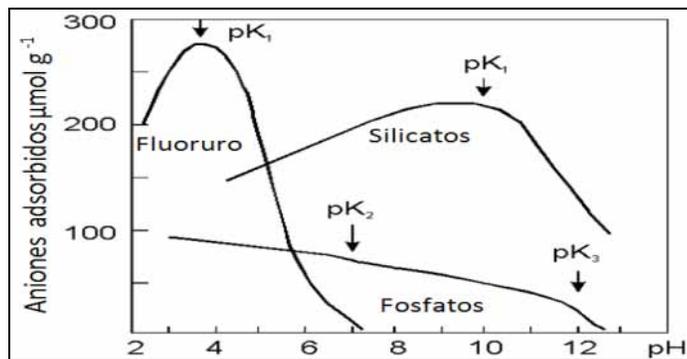


Figura AA11. Absorción de los aniones fosfatos, silicatos y fluoruros sobre del goethite (según Hingstom *et al.*, 1972).

### Acercamientos analíticos utilizados en la determinación de la CIA.

La determinación de la CIA se basa en los mismos principios que los de la CIC con las mismas dificultades. Si la superficie tiene cargas positivas, la CIA es la cantidad máxima de anión susceptible de fijarse por unidad de peso.

La CIA se refiere a los aniones que pueden desplazarse fácilmente. Los aniones polyvalentes  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  no pueden utilizarse debido a su adsorción específica (coordinación) y la precipitación de las sales insolubles con los cationes cambiabiles del medio. En general, la CIA representa 1 al 5% de la CIC (Bolt, 1976).

### *Determinación simultánea la CIA, CI, CIC y CIC neta*

Se pusieron a punto numerosos métodos para realizar simultáneamente los distintos análisis necesarios para caracterizar las potencialidades de un suelo y las cargas que son la causa de los fenómenos de intercambio en los suelos. Se utilizaron medios no tamponeados y muy diluidos para intentar acercar las condiciones de terreno (pH y fuerza iónica solución del suelo). Los sales de  $\text{Ba}^{2+}$  fueron usadas muchas veces (Bascomb, 1964); Gillman, 1979; Gillman y Bakker, 1979; Uehara y Gillman, 1981; Gillman y Sumpster, 1986).

Desgraciadamente, el  $\text{Ba}^{2+}$  no puede utilizarse en presencia de aniones como  $\text{SO}_4^{2-}$ , anión a menudo presente naturalmente en los suelos o utilizado para la corrección de las deficiencias y efectos de la acidez aluminica de los suelos (superfosfatos, enmiendas  $\text{CaSO}_4$ ). Por ello, se buscaron otros aniones poco abundantes en el estado natural en el complejo de intercambio y no vinculados por fenómenos de adsorción selectiva, como  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{Cl}^-$ . La simplicidad de las dosificaciones y su bajo coste permiten efectuarlos en rutina, con una reproductividad satisfactoria.

### Principio

EL método descrito aquí (Cochrane y Desouza, 1985) se refiere a suelos que tienen muchas cargas variables fenómeno frecuente en los oxisoles. El suelo se pone en equilibrio con una solución diluida implicando un catión y un anión índice de fuerza iónica próxima a la de la fase líquida del

suelo. Después de desplazamiento del catión y el anión fijados, se valoran catión y anión índices (corregidos por peso) y se calculan CIC y CIA. La CIC neta es obtenida por diferencia.

### Método

Reactivos utilizados para el « Saturación ion index »

- Nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , MM = 80,05 g mol<sup>-1</sup>) 0,5 mol L<sup>-1</sup>. Pesar 40,02 g de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y disolver en alrededor de 900 mL de agua luego llevar a 1 litro.
- Equilibrado fuerza iónica.
- Nitrato de amonio 0,0215 mol L<sup>-1</sup>. Pesar 1,721 g de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y disolver en 1 litro de agua.
- Desplazamiento del ion índice.
- Cloruro de potasio (KCl, PM = 74,55 g mol<sup>-1</sup>) 0,02 mol L<sup>-1</sup>. Pesar 1,491 g de KCl y disolver en alrededor de 900 mL de agua; ajustar a 1.000 mL después de equilibrar la temperatura.

### Extracciones

- Pesar 3 g de suelo molido a 0,5 mm y colocar en un tubo de centrifugación de 50 mL cerrado con tapa atornillada, previamente pesado.
- Añadir 30 mL de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,5 mol L<sup>-1</sup>.
- Agitar durante 2 horas y centrifugar a 6 000 g.
- Separar el reactivo por decantación, o sea A.
- El suelo se vuelve a poner en suspensión en 30 mL de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,0215 mol L<sup>-1</sup>, que representa aproximadamente el valor del potencial osmótico de la solución del suelo (esta concentración puede adaptarse a casos particulares).
- Agitar durante 60 minutos.
- Centrifugar a 6 000 g.
- El sobrenadante se bota; repetir 2 veces esta puesta en equilibrio.
- Pesar el tubo más la muestra de suelo para calcular la cantidad de solución  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,0215 M adsorbida por el suelo: o sea **A**.
- -añadir 30 mL de solución de desplazamiento KCl 0,02 mol L<sup>-1</sup> (que tiene un potencial osmótico idéntico a  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,0215 mol L<sup>-1</sup>).
- Volver a poner en suspensión y agitar 60 minutos.
- Centrifugar 60 minutos a 6.000 g.
- El líquido sobrenadante con  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  llamado **index** se conserva.
- Repetir 2 veces este tratamiento y reunir los 3 extractos.
- Completar a 100 mL con KCl 0,02 mol L<sup>-1</sup>, o sea **solución B**.

### Determinación de la CIC y CIA

- Sobre la solución B, medir  $\text{NH}_4^+$  total (método de Bremner y Keeney, 1966) que incluye  $\text{NH}_4^+$  intercambiable y  $\text{NH}_4^+$  en equilibrio con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,0215 mol L<sup>-1</sup> (la dosificación es efectuada por colorimetría automatizada o por micro destilación y volumetría), o sea **At**; la CIC viene determinado por el amonio intercambiado expresando los resultados con relación al suelo en cmol(+)kg<sup>-1</sup>:

$$CIC = At - Ar$$

- valorar  $\text{NO}_3^-$  total que incluye  $\text{NO}_3^-$  intercambiable y  $\text{NO}_3^-$  implicado en el equilibrado con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$   $0,0215 \text{ mol L}^{-1}$ , o sea  $N_t$ ; la CIA viene determinada por los nitratos intercambiados expresando los resultados con relación al suelo en  $\text{cmol}(\text{c})\text{kg}^{-1}$ :

$$CIA = N_t - A_t$$

- la CIC neta (sitios positivos que no corresponden a ningún sitio negativo) viene a ser:

$$CIC_{neta} = CIC - CIA$$

Si las dosificaciones no pueden efectuarse el mismo día de la extracción, se añaden 2 gotas de tolueno para prevenir toda evolución bioquímica y se conservan los extractos en el refrigerador al refugio de la luz.

### Determinación de los cationes intercambiables

Sobre la solución A, determinar el pH y valorar Ca, Mg, K, Na, Fe, Mn, Al por absorción atómica o emisión atómica ICP. Los  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{Cl}^-$ : por espectrofotometría de absorción.

Ca + Mg + K + Na = CI (cationes intercambiables)

Al + Fe + Mn  $\cong$  AI (acidez de intercambio)

Ci + Ai = CIC efectiva por combinación

La presencia significativa de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  indica que el suelo contiene yeso o sales solubles.

### Nota: Cationes intercambiables y fertilización

Los fertilizantes, y también los agentes del medio ambiente (pesticidas, cationes tóxicos, entre otros) son retenidos por las cargas de las superficies coloidales que impiden la lixiviación. El complejo fijador sirve de almacenamiento para los iones (cationes-aniones, orgánicos e inorgánicos). La medida de los cationes cambiables, naturalmente presentes en el suelo, se expresa por la suma S (< CIC) y permite, en particular, en relación con la CIC (a veces llamada T), determinar la saturación de un suelo en elementos fertilizantes en un momento dado (generalmente en final de ciclo cultural en zona cultivada), pero el contenido en  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  puede variar rápidamente bajo la influencia de abonos, enmiendas y de la vegetación y el riego que puede a veces causar fenómenos de salinización.

Para el análisis, el tiempo de intercambio es corto (algunos minutos), pero para permitir la rehidratación de las esmectitas y tomar en cuenta los intercambios interfoliareos más lentos (vermiculita y otras arcillas), se debe quedar en contacto el suelo una noche con el reactivo antes de la percolación.

En el caso de las illitas, el  $\text{K}^+$  se atrapa fácilmente en las cavidades hexagonales de la capa tetraédrica y pasa a ser difícilmente extractable, lo que no significa que no sea asimilable en condiciones rizosféricas.

Esta nota dada en conclusión, sirve para recordar que el diagnóstico de fertilidad puede difícilmente basarse sobre mediciones puntuales que no pueden reflejar correctamente los fenómenos que condicionan la producción vegetal de los suelos cultivados.

## **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

- Bascomb, C. L. 1964. Rapid method for the determination of cation-exchange capacity of calcareous and non-calcareous soils. *J. Sci. Food Agric.*, 15, 821-823.
- Bingham, F. T., J. R. Sims y A. L. Page. 1965. Retention of acetate by montmorillonite. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 29, 670-672.
- Bolt, G. H. y F. A. M. De Haan. 1982. Anion exclusion in soil. pp. 233-257. En: Bolt GH (ed.) *Soil Chemistry, B - Physico chemical models*, Elsevier, Development in Soil Sciences.
- Bremner, J. M. y D. R. Keeney. 1966. Determination and isotope ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3- exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30, 577-583.
- Cochrane, T.T. y G. D. M. Desouza. 1985. Measuring surface charge characteristics in oxisols and ultisols. *Soil Sci.*, 140, 223-229.
- Gillman, G. P. 1979. A proposed method for the measurement of exchange properties of highly weathered soils. *Austr. J. Soil Res.*, 17, 129-139.
- Gillman, G. P. y P. Bakker. 1979. *The compulsive exchange method for measuring surface charge characteristics of soil*. CSIRO-Division of Soils, Report 40.
- Gillman, G. P. y E. A. Sumpter. 1986. Modifications to the compulsive exchange method for measuring exchange characteristics of soils. *Austr. J. Soil Res.*, 24, 61-66.
- Hingston, F. J., A. M. Posner y J. M. Quirk. 1972. Anion adsorption by goethite and gibbsite. 1) The role of the proton in determining adsorption envelopes. *J. of Soil Sci.*, 23, 177-192.
- Pansu, M., J. Gautheryou y L. Y. Loyer. 1998. Analyse du sol - échantillonnage, instrumentation et contrôle, Masson, Paris, 512 p.
- Uehara, G. y G. Gillman. 1981. *The mineralogy chemistry and physics of tropical soils with variable charge clays*. Westview Trop. Agri., 4, 170 pages.
- Zelazny, L. W., H. E. Liming y A. Vanwormhoudt. 1996. Charge analysis of soils and anion exchange. In *Methods of soil analysis, part3, Chemical methods*, Bigham JM y Bartels J.M. ed. SSSA-ASA, Madison, WI Etats-Unis, 1231-1253.

## **BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA**

### **Capacidad de intercambio aniónica**

- Bowden, J. W., S. Nagarajah, N. J. Barrow, A. Posner y J. P. Quirk. 1980. Describing the adsorption of phosphate, citrate and selenite on a variable charge mineral surface. *Aust. J. Soil Res.*, 18, 49-60.
- Brady, N. C. 1974. *The nature and properties of soils*. 8th edition. MacMillan, New York.
- Charlet, L. y M. L. Schlegel. 1999. La capacite d'echange des sols. Structures et charges a l'interface eau/particule. *Comptes-Rendus-de-l'Academie-d'Agriculture-de-France*, 85, 7-24.
- Clark, C. J. y M. B. McBride. 1984. Cation and anion retention by natural and synthetic allophane and imogolite. *Clays Clay Minerals*, 32, 291-299.
- Fieldes, M. y K. W. Perrott. 1966. The nature of allophane in soils. Part 3, Rapid field and laboratory test for allophane. *N. Z. J. Sci.*, 9, 623-629.
- Galindo, G. G. y F. T. Bingham. 1977. Homovalent and heterovalent cation exchange equilibria in soils with variable surface charge. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 883-886.
- García-Miragaya, J. 1984. Effect of phosphate sorption of the cation exchange capacity of two Savannah ultisols from Venezuela. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 15, 935-943.

- Cruz Huerta, L. y D. G. Kientz. 2000. Electric charge of andosols of 'Cofre de Perote', Veracruz, México. Carga eléctrica de los andosoles del Cofre de Perote, Veracruz, Mexico. *Terra*, 18, 115-124.
- Eick, M. J., W. D. Brady y C. K. Lynch. 1999. Charge properties and nitrate adsorption of some acid southeastern soils. *Journal of Environmental Quality*, 28, 138-144.
- Juo, A. S. R. y H. P. Madukar. 1974. Phosphate sorption of some nigerian soils and its effect on cation exchange capacity. *Commun. Soil Sci. and Plant Anal.*, 5, 479-497.
- Kawaguchi, K. H., H. Fukutani, H. Murakami y T. Hattori. 1954. Ascension of pH values of ventral NaF extracts of allitic soils and semi quantitative determination of active alumina by the titration method. *Bull. Res. Inst. Food Sci. (Kyoto Univ. Japan)*, 14, 82-91.
- McBride, M.B. 1989. Surface chemistry of soil minerals. pp. 35-88. En: Dixon J.B y S. B. Weed (ed.) *Minerals in soil environments*, Soil Sci. Soc. Amer.
- Mekarus, T. y G. Uehara. 1972. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 36, 296-300.
- Okamura, Y. y K. Wada. 1978. Charge characteristics of Kuroboku soils : effect of pH and ion concentration. *Soil Sci. Soil Manure (Japan)*, 24, 32.
- Parfitt, R. L. y R. J. Atkinson. 1976. Phosphate adsorption of goethite ( $\alpha$ -FeOOH). *Nature*, 264, 740-742.
- Parfitt, R. L. y T. Henmi. 1980. Structure of some allophanes from New Zealand. *Clays Clay Minerals*, 28, 285-294.
- Parker, J.C., L. W. Zeladny, S. Sampath y W. G. Harris. 1979. A critical evaluation of the extension of zero point charge (ZPC) theory to soil systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43, 668-674.
- Rajan, S.S.S. 1975. Mechanism of phosphate adsorption by allophanic clays. *N. Z. J. Sci.*, 18, 93-101.
- Rajan, S.S.S. 1976. Changes in net surface charge of hydrous alumina with phosphate adsorption. *Nature*, 262, 45-46.
- Ryden, J. C. y J. K. Syers. 1975. Charge relationships of phosphate sorption. *Nature*, 255, 51-53.
- Ryden, J. C. y J. K. Syers. 1976. Calcium retention in response to phosphate sorption by soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 40, 845-846.
- Sawhney, B. L. 1974. Charge characteristics of soils as affected by phosphate sorption. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 38, 159-160.
- Schalscha, E.B., P. F. Pratt, y D. Soto. 1974. Effect of phosphate adsorption on the cation-exchange capacity of volcanic ash soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 38, 539-540.
- Schalscha, E.B., P. F. Pratt, T. Kinjo y J. A. Amar. 1972. Effect of phosphate salts as saturation solutions in cation-exchange capacity determinations. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 39, 912-914.
- Schwertmann, U. y R. M. Taylor. 1989. Iron hydroxydes. In *Minerals in soil environments*, Dixon JB et Weed SB ed. Soil Sci. Soc. Amer., 8, 379-438.
- Shoji, S. y T. Ono. 1978. Physical and chemical properties and clay mineralogy of andosols from Kitakami (Japan). *Japan Soil Sci.*, 126, 297-312.
- Tate, K. R. y B. K. G. Theng. 1980. *Soils with variable charge*. pp. 225-249. En: Theng B.K.G. (ed.) *Organic matter and its interactions with inorganic soil constituents*, Nz. Soc. Soil Sci.
- Theng, B. K. G. 1979. *Formation and properties of clay-polymer complexes*. Elsevier, 362 pages.
- Triana, A., R. D. Lefroy, G. L. Blair y M. E. Probert. 1995. The effect of flooding on S sorption capacity and AEC of variable charge soils. pp. 135-139. En: Date, R. A., N. J. Grundon, G. E. Rayment. (eds). *Proceedings of the Third International Symposium, Brisbane, Queensland, Australia, 12-16 September 1993*, Kluwer Academic Publishers; Dordrecht.
- USDA. 1975. *Soil survey staff. A basic system for making and interpreting soil surveys*. USDA Handbook, 436.

- Wada, K. y Y. Okamura. 1977. Measurements of exchange capacities and hydrolysis as means of characterizing cation and anion retention by soils. Proc. Intern. Seminar on Soil Environment and Fertility Management in Intensive Agriculture. *Soc. Sci. Soil & Manure*. Tokyo, Japan. pp. 811-815.
- Wada, K. y Y. Okamura. 1980. Electric charge characteristics of ando A<sub>1</sub> and buried A<sub>1</sub> horizon soils. *J. Soil Sci.*, 31, 307-314.

### Capacidad de intercambio catiónico

- Carski, T. H. y D. L. Sparks. 1985. A modified miscible displacement technique for investigating adsorption-desorption kinetics in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 49, 114-116.
- Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1981. *Contribution à l'étude de la capacité d'échange des sols à allophane. Aspects analytiques de la CEC et ses conséquences sur l'interprétation pédo-agronomique*. ORSTOM-Antilles, notes de laboratoire. Tome I : 276 pages. Tome II : 129 pages. Tome III : profils. 200 p.
- Gautheyrou, J. y M. Gautheyrou. 1967. *Dosage des cations échangeables du sol*. ORSTOM-Antilles, notes de laboratoire, 27 p.
- Gillman, G. P., J. O. Skjemstad y R. C. Bruce. 1982. A comparison of methods used in Queensland for determining cation exchange properties. *CSIRO Aust. Div. Soils tech.* 44, 1-18.
- Hao, X. y C. Chang. 2002. Effect of 25 annual cattle manure applications on soluble and exchangeable cations in soil. *Soil Science*, 167, 126-134.
- Holmgren, G. G. S., R. L. Juve y R. C. Geschwender. 1977. A mechanically controlled variable rate leaching device. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 1207-1208.
- Jardine, P. M., G. V. Wilson y R. J. Luxmoore. 1988. Modeling the transport of inorganic ions through undisturbed soil columns from two contrasting watersheds. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52 : 1252-1259.
- Kalra, Y. P. y D. G. Maynard. 1991. *Methods manual for forest soil and plant analysis*. Forestry Canada, Northern forestry center, information report NORX-319, 15, 84-94.
- Kool, J. B., J. C. Parker y L. W. Zelazny. 1989. On the estimation of cation exchange parameters from column displacement experiments. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53 : 1347-1355.
- Kukier, U., M. E. Sumner y W. P. Miller. 2001. Distribution of exchangeable cations and trace elements in the profiles of soils amended with coal combustion. *Soil science*, 166, 585-597.
- Liu, C. L., M. K. Wang y C. C. Yang. 2001. Determination of cation exchange capacity by one-step soil leaching column method. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32, 2359-2372.
- Luer, B. y A. Bohmer. 2000. Comparison between percolation and extraction with 1M NH<sub>4</sub>Cl solution to determine the effective cation exchange capacity (CEC<sub>eff</sub>) of soils. *J. of Plant Nutrition and Soil Science*. 163, 555-557.
- NF X 31-108. 1992. Détermination des cations Ca, Mg, K, Na extractibles par l'acétate d'ammonium. In *Qualité des sols*, AFNOR, Paris. pp. 59-65.
- NF X 31-130. 1993. Détermination de la capacité d'échange cationique et des cations extractibles. In *Qualité des sols*, AFNOR, Paris. pp. 103-116.
- NF ISO 11260. 1994. Détermination de la capacité d'échange cationique effective et du taux de saturation en bases échangeables à l'aide d'une solution de chlorure de baryum. In *Qualité des sols*, AFNOR, Paris. pp. 243-256.
- NF ISO 13536. 1995. Détermination de la capacité d'échange cationique potentielle et de la teneur en cations échangeables en utilisant une solution tampon de chlorure de baryum à pH = 8,1. In *Qualité des sols*, AFNOR, Paris. pp. 293-303.

- Ogwada, R. A. y D. L. Sparks. 1986. Kinetics of ion exchange on clay minerals and soil: evaluation of methods. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50, 1158-1162 y 1162-1166.
- Okazaki, R., H. W. Smith y C. D. Moodie. 1962. Development of a cation-exchange capacity procedure with few inherent errors. *Soil Science*, 93, 343-349.
- Pansu, M., J. Gautheyrou y L. Y. Loyer. 1998. *L'analyse du sol - échantillonnage, instrumentation et contrôle*. Masson, Paris.
- Schweich, D., N. Sardin y J. P. Gaudet. 1983. Measurement of a cation exchange isotherm from elution curves obtained in a soil column : preliminary results. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 47, 32-37.
- Shaviv, A., W. A. Jury y P. F. Pratt. 1986. Exchange, fixation and precipitation of cations during leaching of soils amended with manure: 1/ column experiments. *Soil Science*, 141, 237-243.
- Sparks, D. L., L. W. Zelazny y D. C. Martens. 1980. Kinetics of potassium desorption in soil using miscible displacement. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 1205-1208.
- Sparks, D. L. y P. M. Jardine. 1981. Thermodynamics of potassium exchange in soil using a kinetics approach. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45, 1094-1099.
- van Den Ende, J. 1989. Estimating the chemical composition of the soil solution of glasshouse soil. 1. Compositions of soil solution and aqueous extracts. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 37, 311 – 322.
- van Den Ende, J. 1989. Estimating the chemical composition of the soil solution of glasshouse soil. 2. Relationships between the compositions of soil solution and aqueous extracts. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 37, 323 – 334.
- Van Genuchten, M. Th. y J. C. Parker. 1984. Boundary conditions for displacement experiments through short laboratory columns. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 703-708.
- Van Reuwijk, L. P. 1987. *Procedures for soil analysis*. ISRIC, 9-1 à 9-11.

# SOLUCIÓN DEL SUELO Y ESTIMACIÓN DE LA FERTILIDAD O DEL EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN

## INTRODUCCION

Se presenta un breve inventario de los componentes de la **solución del suelo**, ya que este compartimiento del sistema suelo-planta constituye el punto de encuentro de todos los procesos que intervienen tanto en la mejora de la fertilidad como en la degradación de los suelos cultivados. En este sentido se puede pensar que, gracias a los progresos de las técnicas analíticas (en particular de la detección *in situ* de los elementos en los micro-sitios activos del suelo, la detección), nuevos avances se pueden realizar para valorizar mejor este compartimiento vital en el diagnóstico de la fertilidad actual y potencial.

Los estudios de fertilidad de suelos y de la eficiencia de la fertilización se han basado siempre en el pasado sobre la determinación de la supuesta “**disponibilidad**” de nutrientes, determinada por diversos procedimientos rutinarios de extracción (Jackson, 1970). Pero, por lo general, los factores estructurales, hídricos y biológicos o son mal evaluados o sencillamente no tomados en cuenta por estos métodos rutinarios, por lo que la definición de fertilidad basada en estos criterios queda en general inadecuada, o por lo menos incompleta.

En efecto, estas tentativas de evaluación de la fertilidad se basan en una serie de postulados más o menos implícitos, que empiezan por el supuesto de una acción rizosférica de intercambio comparable a la de soluciones normalizadas en el laboratorio las cuales, evidentemente, actúan de manera muy diferente debido a varios factores: la concentración, la relación suelo/solución, las condiciones de temperatura y agitación de una pequeña muestra de suelo en una gran cantidad de reactivo, lo que representa una situación muy diferente de las condiciones creada por la planta en la rhizo-esfera.

Este potencial de intercambio indicado por los métodos de laboratorio rutinarios, sólo puede constituir aproximaciones cómodas para clasificar los suelos y algunos aspectos de su fertilidad potencial en un momento dado. Pero tales aproximaciones empíricas de laboratorio no deben confundirse con realidades físico-químicas, como pueden ser las propiedades de constituyentes del suelo bien definidos tales como cristales de arcilla, y los constituyentes minerales, orgánicos u órgano-minerales (que pueden aislarse sin destruirlos para estudiar sus propiedades), o realidades biológicas como los efectos e interacciones de las diversas biomasas que desarrollan sus actividades en el suelo.

Para terminar esta introducción, es preciso recordar aquí un avance científico decisivo obtenido durante el último medio siglo. Por el uso combinado de indicadores isotópicos y de cultivos de planta patrón sobre suelos marcados, se logró demostrar la inadecuación de la definición de la disponibilidad del nitrógeno, del potasio o del fósforo por los análisis clásicos, basados sobre las sencillas extracciones practicadas en los análisis rutinarios de caracterización y sus correlaciones empíricas con los resultados de cultivos. En realidad, los tres elementos mayores realmente asimilados por los cultivos, resultan del juego complejo de los fenómenos de mineralización-organización-inmovilización. Una sola extracción estática no puede revelar esta complejidad que sólo puede ser simulada por el juego de ecuaciones utilizadas por los modelos del sistema suelo-solución-planta.

El primer paso que se tiene que dar para poder renovar el diagnóstico de la fertilidad, es de tomar conciencia del valor muy relativo de las informaciones suministradas por los análisis de los

laboratorios de rutina. Las eventuales correlaciones entre estos resultados y las cantidades de nutrientes efectivamente exportados por los cultivos, no constituyen ninguna prueba de la identidad entre el conjunto extraído en el laboratorio y los elementos realmente absorbidos en la rhizo-esfera.

El segundo paso será entonces, analizar el funcionamiento del sistema planta-solución-suelo, privilegiando las estimaciones de flujos potenciales de nutrientes, lo que supone el acceso a las características cinéticas de los fenómenos bio-físico-químicos en juego en estos sistemas.

La tradicional prudencia del responsable de la interpretación de resultados de análisis de suelo viene de de su conciencia, mas o menos clara, de la debilidad de estos indicadores analíticos frente a la compleja realidad rhizoesférica. La referencia explícita a los modelos de simulación de las relaciones suelo-planta debería ahora dar mas seguridad a estas interpretaciones.

A estas consideraciones generales se agrega como segunda parte de este apéndice, prospectivo los principales métodos de extracción de muestras representativas de la solución de suelo, los cuales no necesariamente son excluyentes sino que por el contrario pueden complementarse dependiendo del caso que se presente o del estudio que desee realizarse.

### **La solución del suelo y el sistema suelo-raíces**

Desde un punto de vista estrictamente químico y simplista, la solución del suelo es un medio acuoso en el cual tienen lugar la gran mayoría de las reacciones químicas y/o bio-químicas con las fases sólida y gaseosa del suelo y del cual las raíces de la planta toman sus nutrientes. En el sentido inverso, las raíces y microorganismos pueden aportar por exudación o excreción especies químicas orgánicas solubles a la solución.

En realidad, la naturaleza de esta solución de suelo puede interpretarse desde diferentes puntos de vista, físico, geoquímico, biológico, por ejemplo. De hecho, las propiedades de esta solución han sido estudiadas por varias disciplinas científicas con diversos propósitos. Además de la propia ciencia del suelo y la agronomía, el estudio de la solución de suelo ha servido por igual a ecólogos, geoquímicos, hidrólogos, y hasta profesionales de la salud.

Por ello, tanto su extracción como su análisis físico-químico y biológico juegan un papel importante tanto en la evaluación de su composición en un momento dado, igualmente para la elucidación de los flujos de nutrientes a través del perfil del suelo y de la disponibilidad de estos para los cultivos.

### ***La solución de suelo como parte de la fase líquida del suelo***

Siendo la solución de suelo un componente de la fase líquida del suelo, está sujeta también a aquellos factores que limitan la disponibilidad de agua para las plantas como las fuerzas físicas que gobiernan su movilidad, las cuales se definen en función del **Potencial del Agua** en el mismo.

Se llama **potencial del agua** a la presión necesaria para provocar el desplazamiento de la fase líquida en el suelo. A un potencial nulo, la fase líquida se desplaza libremente, pero a medida que este potencial crece más difícil será mover la fase líquida. Ahora, para el uso agrícola de los suelos, lo que interesa es la disponibilidad de la solución para los cultivos, lo que obliga a establecer una definición de solución de suelo desde el punto de vista físico, en función de aquellos potenciales hídricos entre los cuales las raíces puedan absorber esta fase líquida.

De esta manera, el agua sujeta a potencial gravitatorio ( $0$  a  $-33$  kPa)<sup>31</sup> puede considerarse como no disponible para las plantas, ya que la fuerza de gravedad la aleja de las raíces antes de que la planta pueda disponer de ella. Igualmente, el agua retenida por fuerzas grandes de adhesión a la fase sólida de suelo ( $-3000$  kPa y  $-10^6$  kPa) tampoco está disponible para las plantas ya que está tan fuertemente retenida a las partículas de la fase sólida que la fuerza de succión de las raíces no es suficiente para absorberla.

Por lo tanto, se define como agua disponible o “**solución del suelo**” la parte de la fase líquida que está retenida en el suelo, pero quedando a disposición de las biomásas radiculares y microbianas. Su potencial se ubica entre el potencial llamado “**capacidad de campo**” ( $-33$  kPa), donde el agua se queda en el perfil sin poder salir ni por escurrimiento superficial ni por lixiviación lateral o vertical, y el “**punto de marchitez**” ( $-1500$  kPa) potencial hídrico donde las biomásas radiculares ya no pueden abastecerse de agua.

Suponiendo el caso de un suelo donde la capacidad de campo sea del orden de 33% ello significa que la solución de suelo representa una cantidad de agua de aproximadamente un millón de litros por hectárea en los primeros 25 cm de suelo, cuyo peso total se estima del orden de 3000 toneladas en el caso de un suelo bien estructurado con una densidad aparente de 1,2 a 1,3 (o sea 300 kg por m<sup>2</sup> para esta primera capa de arado). Es preciso recordar este orden de magnitud que ayuda a entender por qué, al salir del verano, los suelos necesitan recibir de doscientos a trescientos litros de lluvia o de riego por m<sup>3</sup> antes de poder servir de soporte a cualquier cultivo.

No nos corresponde aquí de hablar de las propiedades mecánicas del suelo que, en gran parte, dependen de la proporción de la porosidad total ocupada por la solución del suelo. Pero en la práctica, cada labrador sabe evaluar empíricamente el grado de humedad relativa favorable para poder entrar en sus parcelas y realizar los trabajos de preparación de la tierra antes de la fertilización y de la siembra.

### ***La solución de suelo como sitio de transición de bio-constituyentes y medio de biomásas***

Vale la pena recordar aquí que cualquier suelo contiene entre millones y decenas de millones de micro organismos por gramo de suelo. En el caso clásico de una humedad relativa de 33%, a cada gramo de suelo seco le corresponde 330 microlitros de agua aproximadamente. Cada uno de estos microlitros (cubitos de 1 milimetro de lado) corresponde a  $10^9$  microcubitos de 1 micron de lado. Este volumen puede albergar fácilmente cincuenta a cien millones de micro-organismos del tamaño de una bacteria sin hablar de las excreciones de todo tipo. Además, fuera de las bacterias existen en los suelos millares de otros organismos más voluminosos que las bacterias.

En su corta vida cada uno de estos organismos mineraliza numerosas y variadas moléculas orgánicas pero también sintetizan moléculas de naturaleza orgánica, en cuya composición entra el oxígeno y el hidrógeno que necesariamente tiene que provenir de otros compuestos presentes en la solución del suelo. Por este motivo, la composición orgánica de la solución de suelo es mucho más variable que la composición mineral.

Sin embargo, la mayoría de los micro-organismos se adhieren a los soportes sólidos y la probabilidad de encontrar parte de esta agua libre de micro-organismos es alta. Otra vez, es la gran heterogeneidad del suelo que puede explicar que se encuentran micro sitios sobrepoblados al lado de otros estériles.

---

<sup>31</sup> En este rango de presiones se suelen todavía usar el bar, ba, y el kiloPascal, kPa, 1 bar siendo equivalente a 100 kPa.

Estas simples evidencias no se deben olvidar a la hora de querer utilizar la solución de suelo como posible indicador de la fertilidad de los suelos y de los efectos de la fertilización.

### La solución de suelo como medio de transporte químico

#### *La solución de suelo como compartimiento iónico y molecular de la fase líquida*

Una definición química de solución de suelo es compleja debido a la gran variedad de especies químicas y de los tipos de reacciones químicas (y bioquímicas) en que se involucran estas especies. Además, la naturaleza dinámica de estos procesos le da un carácter transitorio a la composición química de la misma, por lo que los flujos y ciclos de estas especies adquieren una importancia singular en la definición química de solución de suelo.

Desde este punto de vista, la solución actúa como solvente y medio de transporte de gases, iones, moléculas solubles de todo tipo además de material coloidal orgánico, organo-mineral o mineral amorfo o cristalino.

#### *Componentes provenientes de la fase gaseosa del suelo. Gases solubles*

La solución del suelo contiene gases disueltos, cuya solubilidad está gobernada por la *Ley de Henry*, la cual indica que la solubilidad de estos varía de manera proporcional a la presión que los mismos ejercen sobre la superficie del agua, es decir:

$$C_{gas} = \alpha \times P_{gas}$$

donde  $C_{gas}$  representa la concentración del gas en la solución en  $\mu\text{L}$  de gas por mL solvente,  $\alpha$  representa el coeficiente de solubilidad en  $\mu\text{L}$  gas por cada mL de agua por cada atmósfera, el cual depende de la temperatura (ver Cuadro AP1) y  $P_{gas}$  la presión del gas en atm. Los gases más importantes presentes en la solución del suelo son el  $\text{O}_2$ , el  $\text{N}_2$  y el  $\text{CO}_2$ . Los dos primeros se disuelven como tal; el oxígeno es necesario para el crecimiento de muchos organismos aeróbicos y el nitrógeno es sacado de la solución de suelo por los fijadores. El  $\text{CO}_2$  se disuelve por reacción con el agua formando ácido carbónico según:

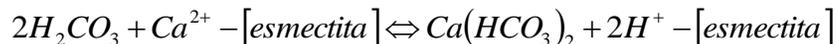


Cuadro AP1. Coeficiente de solubilidad  $\alpha$  en  $\mu\text{L}_{gas} \text{ mL}_{ste}^{-1} \text{ atm}^{-1}$

Temperatura °C	Oxígeno	Nitrógeno	Dióxido de carbono
0	48,9	23,5	1713
25	28,3	14,3	759

Siendo el ácido carbónico un ácido débil ( $pK_{a1} = 6,37$ ), su disociación afecta el pH de la solución del suelo debido a la generación de protones y según la reacción anterior, mientras mayor sea la presión del  $\text{CO}_2$  en el suelo el pH se irá acercando a 4, el cual representa el máximo grado de acidez que se puede obtener por disolución de  $\text{CO}_2$  en la solución.

Los protones producidos por la disociación del  $H_2CO_3$  compiten con los cationes base adsorbidos por las arcillas facilitando su lixiviación como bicarbonatos según:



El proceso anterior es favorecido por altas concentraciones de  $CO_2$  en el aire edáfico el cual puede contener hasta un 5 % en volumen, comparado con el 0,03 % de la atmósfera terrestre. De esta manera, si hay una pérdida de las bases puede iniciarse un proceso de acidificación del suelo.

Sin embargo, si la solución de suelo manifiesta una acidez importante ( $pH < 5$ ) entonces el proceso anterior es menos importante ya que en estas condiciones los ácidos débiles como el carbónico están poco disociados.

Tanto las concentraciones del oxígeno como del anhídrido carbónico dependen de sus concentraciones en la atmósfera edáfica así como de las actividades biológicas que se desarrollan en la solución del suelo. Parte de ellos también intervienen en la cristalización de minerales como arcillas y carbonatos.

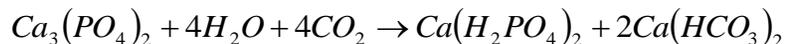
#### *Constituyentes minerales provenientes de la fase sólida del suelo.*

Los componentes mayoritarios provenientes de la fase sólidas del suelo son N, P, K, Ca, Mg, S así como materia orgánica (Foth, 1990). Algunos de estos elementos esenciales están presentes en la solución en forma de iones; los cationes participan en reacciones de intercambio con los coloides del suelo, mientras que los aniones o están disueltos o adsorbidos sobre superficies con carga positiva como en los óxidos anfóteros de hierro y aluminio.

La mayoría del nitrógeno en el suelo esta bajo la forma de nitrógeno orgánico cuya mineralización proveen las formas solubles de amonio y nitrato, las cuales son absorbidas por las plantas.

La forma de fósforo presente en la solución de suelo depende del  $pH$ , en medio alcalino predomina la forma  $HPO_4^{2-}$  mientras que en medio ácido moderado puede haber una mezcla de las formas  $HPO_4^{2-}$  y  $H_2PO_4^-$  y en medio muy ácido predomina la forma  $H_2PO_4^-$ . Pueden existir formas orgánicas solubles que no son directamente utilizadas por las plantas, sin embargo pueden sufrir un proceso de mineralización.

Ahora bien, las diferentes formas minerales de fósforo presentan un problema particular que no es fácil de resolver. Las diferentes formas nativas de fósforo en el suelo están presentes en pequeñas cantidades que por lo general son insolubles en el agua. Sin embargo, el  $CO_2$  exudado por las raíces de las plantas puede crear un ambiente químico favorable para la disolución de los fosfatos, sin embargo esta es muy lenta:



Los microorganismos también se pueden apropiarse del poco fósforo soluble y transformarlo en complejos orgánicos insolubles. Igualmente, fertilizantes fosfatados como  $Ca(H_2PO_4)_2$  y  $NH_4H_2PO_4$  solubles pueden ser transformados a formas insolubles con calcio, hierro y/o aluminio.

Entre los componentes minoritarios, también provenientes de la fase sólida del suelo, están los elementos Fe, Mn, B, Mo, Cu, Zn, Cl, Co, los cuales son requeridos por las plantas en cantidades muy

pequeñas. Los factores que determinan el Tiempo de Residencia de estos elementos en la solución de suelo están relacionados con las condiciones fisicoquímicas del suelo y el tipo de planta.

### *Constituyentes orgánicos*

La materia orgánica presente en la solución de suelo, o materia orgánica soluble, proviene tanto de la fase sólida (humus) como de los microorganismos presentes en el suelo, además de los exudados de las raíces y de la actividad biológica (Schwab, 2000). Estos compuestos son constantemente biodegradados por la actividad biológica, de manera que la composición orgánica de la solución de suelo es mucho más variable que la composición mineral, ver Cuadro AP2.

Cuadro AP2. Componentes orgánicos mayoritarios y minoritarios presentes en la Solución de suelo

<b>Componentes mayoritarios</b> $10^{-3} - 10^{-5} \text{ M}$	<b>Componentes minoritarios</b> $< 10^{-5} \text{ M}$
Ácidos carboxílicos, amino ácidos, azúcares simples, almidones	Carbohidratos, compuestos fenólicos, proteínas, alcoholes, aldehídos, sulfidrilos

Las reacciones químicas en las que intervienen estos componentes dependen de sus cargas eléctricas y de sus características hidrofílicas. Por ejemplo, la materia orgánica cargada negativamente (ácidos húmicos y fúlvicos) puede formar complejos estables con elementos como el hierro, aluminio, cobre, entre otros. La materia cargada positivamente puede participar en reacciones de intercambio, y compuestos neutros pueden adsorberse sobre sitios hidrofóbicos de la materia orgánica del suelo (McBride, 1994).

Ácidos carboxílicos de bajo peso molecular son usualmente exudados por las raíces de las plantas y los microorganismos. Así, los ácidos fórmico y tartárico son exudados por las raíces, el ácido acético se forma en condiciones anaeróbicas, el ácido oxálico está relacionado con las micorrizas y el ácido cítrico es producido por los hongos y raíces (Sposito, 1989). Las concentraciones de estos compuestos en la solución del suelo pueden variar entre 0,001 y  $10^{-5} \text{ M}$ .

Los ácidos orgánicos (quelantes) pueden ser no humificados o humificados. Los primeros comprenden ácidos alifáticos simples, complejos aromáticos y ácidos heterocíclicos (ácido fórmico, aminoácidos, ácido tánico), y su concentración en el suelo es relativamente baja en comparación con los segundos, los cuales son moléculas de gran tamaño con una mayor reactividad por la presencia de un número apreciable de grupos  $-\text{COOH}$ ,  $\text{OH}$  - fenol y  $-\text{NH}_2$ . Esto permite la realización de diversas reacciones que incluyen interacciones electrostáticas, formación de complejos, quelatos, adsorción, quimioadsorción, entre otros.

Las reacciones bioquímicas gobiernan las descomposiciones enzimáticas de la materia orgánica del suelo (humus) las cuales son muy variadas y complejas; sin embargo, sus productos son sustancias simples como el  $\text{CO}_2$  y el agua. Las formas minerales de nitrógeno,  $\text{N} - \text{NH}_4^+$  y  $\text{N} - \text{NO}_3^-$  son producidas por los microorganismos amonificadores y nitrificadores. La gran mayoría de estas formas son solubles en el agua del suelo de manera que tienen un destino final común que es la solución de suelo. En el Cuadro AP3 se enlistan los diferentes productos de estas descomposiciones.

La solución de suelo no está exenta de fuentes de contaminación con agentes químicos extraños al ambiente, debido al uso cada vez más indiscriminado de agroquímicos y la disposición de desechos industriales.

Cuadro AP3. Productos solubles de la descomposición de la materia orgánica del suelo.

Elemento	Producto
C	$C, CO_2, CO_3^{2-}, HCO_3^-$
N	$NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, N_2$
S	$H_2S, S, SO_3^{2-}, SO_4^{2-}$
P	$H_2PO_4^-, HPO_4^-$
otros	$H_2O, O_2, H_2, H^+, OH^-$

### *Especies químicas tóxicas provenientes de la contaminación ambiental*

Entre estos elementos están As, Pb, Hg (McBride, 1994). El As se aplica al suelo en los insecticidas, el Pb es descargado al aire por el transporte automotor, llegando eventualmente a los suelos. El Hg se usa en pesticidas y actividades mineras. Este mercurio en condiciones anaeróbicas da pie a la formación del metil mercurio, la cual es una especie de mercurio aún más tóxica.

El suelo recibe igualmente algunos elementos radioactivos por medio de la precipitación atmosférica. Para elementos radioactivos con vida media corta, el problema de la contaminación no es muy importante. Sin embargo, para aquellos con vida media más larga son de mayor importancia como el Cesio ( $^{137}\text{Cs}$ ) que proviene de experiencias nucleares. Por suerte, esta especie radioactiva es adsorbida por la fracción arcillosa, vermiculita, disminuyendo su disponibilidad (Absalom *et al.*, 1995).

En la solución de suelo también puede estar presente una materia orgánica proveniente de actividades agrícolas (o industriales) como pesticidas los cuales son aplicados en dosis de hasta 1 kg por ha. La concentración final en la solución del suelo dependerá de su solubilidad en el agua, capacidad de adsorción, volatilidad y de su degradabilidad.

Por ejemplo, la atrazina se aplica en dosis de hasta 2 kg por ha y tiene una solubilidad en el agua de  $35 \text{ mg L}^{-1}$ , tiene poca volatilidad, es poco adsorbida por el suelo y tiene una vida media de 30 días aproximadamente. Por el contrario, el glifosato se aplica en las mismas dosis pero es mucho más soluble, es poco volátil y es fuertemente adsorbido. Sus concentraciones en la solución pueden superar los  $5 \text{ mg L}^{-1}$  (Schwab, 2000).

### **Defectos de las definiciones simplistas de solución de suelo.**

La definición de solución de suelo dada en las secciones anteriores son modelos simplistas de la misma que, aunque correctas, no son adecuadas para diferentes perspectivas fisicoquímicas y biológicas.

Desde una perspectiva química, la solución de suelo es “una fase acuosa en estado líquido” en el suelo cuya composición depende del flujo de materia y energía que está sujeta a la fuerza gravitacional de la tierra (Spósito, 1989). Por lo tanto, la solución de suelo es un sistema abierto que intercambia energía y otros componentes con los alrededores bien sea agua, aire y medio biológico.

Por ejemplo, es sabido que tanto la composición como las cinéticas de procesos químicos difieren si estos suceden en la interfase sólido líquido o en el seno de la fase líquida. Igualmente, la definición de solución de suelo depende también los objetivos que se persiguen y de la metodología utilizada par su obtención.

Por otro lado, si se considera a la solución de suelo como una fase, entonces se asume una uniformidad en composición y otros parámetros físicos como temperatura, y además se acepta la posibilidad de que esta pueda aislarse del suelo donde se encuentra.

Aceptar estos aspectos como tal no sería correcto, ya que la uniformidad se presenta sólo a pequeña escala debido a que el suelo es una entidad dinámica y variable, tanto espacialmente como en el tiempo.

Desde una perspectiva molecular, la solución de suelo es sólo una parte de una fase continua que presenta distintas interfases a nivel molecular (Wolf, 1994). De esta manera, parte de los solutos están asociados a la fase coloidal o al agua libre que percola a través de los macroporos, o a la que está inmovilizada en los microporos o al agua libre en la zona rizosférica.

### ***La solución de suelo como compartimiento transitorio de especies químicas***

#### *Procesos de entrada y salida de nutrientes en la solución de suelo*

El cambio de composición química de la solución de suelo en el tiempo y en el espacio es tal que lo que importa, no es tanto su composición exacta a un momento dado, sino los *flujos* de nutrientes que atraviesan este compartimiento y los *tiempos de residencia* de estos nutrientes en la solución.

El **FLUJO** se define como la cantidad de sustancia que pasa por la solución de suelo en un período fijo de tiempo y por unidad de área transversal ( $mmol \times cm^{-2} \times s^{-1}$ ), y en condiciones de equilibrio termodinámico su **Tiempo de Residencia** se puede definir como la cantidad de sustancia presente en la solución dividido por la velocidad de remoción o reposición del nutriente en la solución.

Para hablar de la dinámica de los elementos a través de la solución de suelo, es preciso recordar que **para entrar a la fase acuosa**, los iones tienen que pasar por la **disolución** (disociación en la solución de los aniones y cationes implicados en la composición de una molécula en estado sólido) o la **desorción** (disociación del enlace físico o electro-químico que mantiene al ión adsorbido sobre un soporte sólido mineral, órgano-mineral u orgánico).

Una vez solubilizados, los iones son sometidos a procesos de **difusión** (los solutos son esparcidos en el seno de la solución de suelo) y de **convección** (migración de los sitios de más alta hacia los de más baja concentración), que tienden a uniformizar la composición de la solución y a compensar los efectos del consumo constante de estos elementos por las biomasas microbianas, vegetales o animales del suelo.

**La salida de la fase acuosa** se puede hacer por diversas modalidades como **absorción** biológica por las plantas o por **adsorción** física sobre los soportes sólidos dotados de los sitios apropiados, o por simple **precipitación** de especies sólidas amorfas o cristalinas según las condiciones fisico-químicas del medio.

En la Figura AP1 se muestran los principales procesos fisicoquímicos que permiten la entrada y salida de especies químicas de la solución de suelo a partir de las fases sólida y gaseosa. La intemperización de minerales así como la descomposición de la materia orgánica proveen al compartimiento iónico de la solución de suelo. Las formas iónicas serán absorbidas por las raíces de las plantas o serán lixiviadas. Algunas de estas formas precipitarán o formarán minerales secundarios como las arcillas. Otras de estas formas iónicas podrán ser adsorbidas o liberadas de los sitios de intercambio del complejo adsorbente.

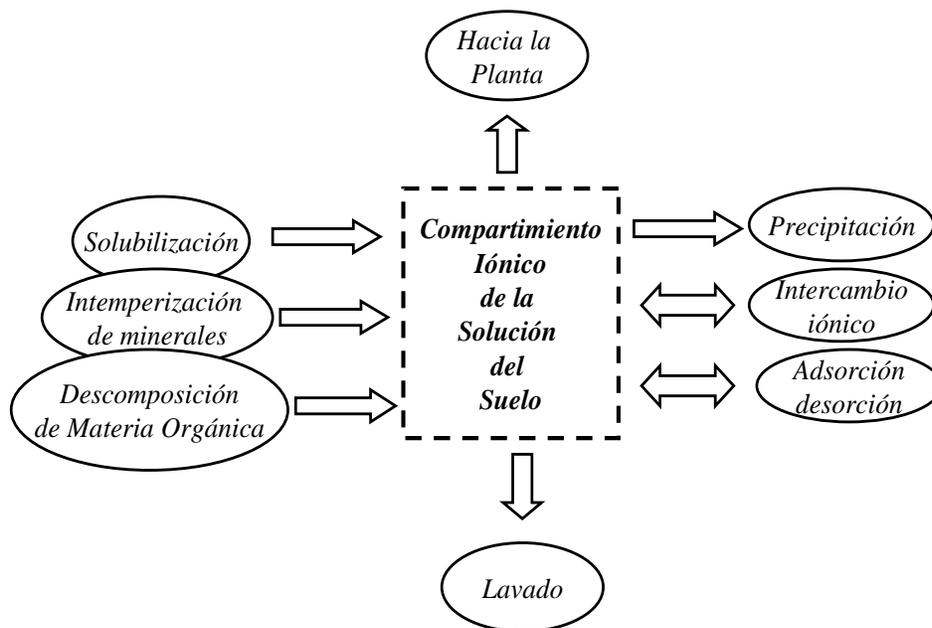


Figura AP1. Procesos que permiten la entrada y salida de nutrientes a la solución de suelo.

En efecto, una vez disueltas, las diferentes especies químicas van a tener un destino relacionado con los gradientes de concentración que se van creando en la solución en la cercanía de los constituyentes sólidos inertes o de los elementos de biomasa vegetal o microbiana.

Cuando la planta consume nutrientes de la solución del suelo, la fase sólida repone lo consumido hasta que el equilibrio iónico se restablezca. Por el contrario, si aumenta la concentración de un determinado nutriente en la solución del suelo (por aplicación de fertilizantes por ejemplo), el exceso ocupará sitios de intercambio en la fase sólida o precipitará en una forma insoluble.

Aniones y cationes pueden sufrir varias etapas de desorción y re-adsorción en la fase sólida antes de haber podido ser absorbidos por la planta. Esto puede limitar seriamente el flujo de ciertas especies químicas en suelos con altos contenido de constituyentes dotados de cargas negativas o positivas (humus, esmectitas y/o óxidos anfóteros), capaces de fijar aniones o cationes. Los iones orto-fosfatos, por ejemplo se mueven muy poco en suelos oxidicos porque tienen gran probabilidad de reabsorberse en nuevos sitios después de una desorción.

Este comportamiento varía de un suelo al otro en relación a los cuatro factores que condicionan el transporte de estos nutrientes, desde la fase sólida o los soportes de adsorción hasta los sitios de absorción a saber: **Cantidad, Intensidad** (*cantidad x tiempo*), **Capacidad y Velocidad**.

La determinación de estos cuatro factores para un suelo permite valorizar luego simples mediciones de concentración de estos nutrientes fundamentales en la solución del suelo, tanto para evaluar las variaciones de la fertilidad como para calibrar y validar diversos modelos de simulación del sistema suelo-planta.

### *Factores que gobiernan la solubilización y movilización de especies iónicas en la solución de suelo*

Son diversos los factores que intervienen tanto en la solubilización como en la movilización de las diferentes especies iónicas en la interfase sólido líquido, como en la misma solución de suelo. En la

Figura AP2 se muestran algunas interrelaciones entre algunos de estos factores, los cuales serán discutidos a continuación.

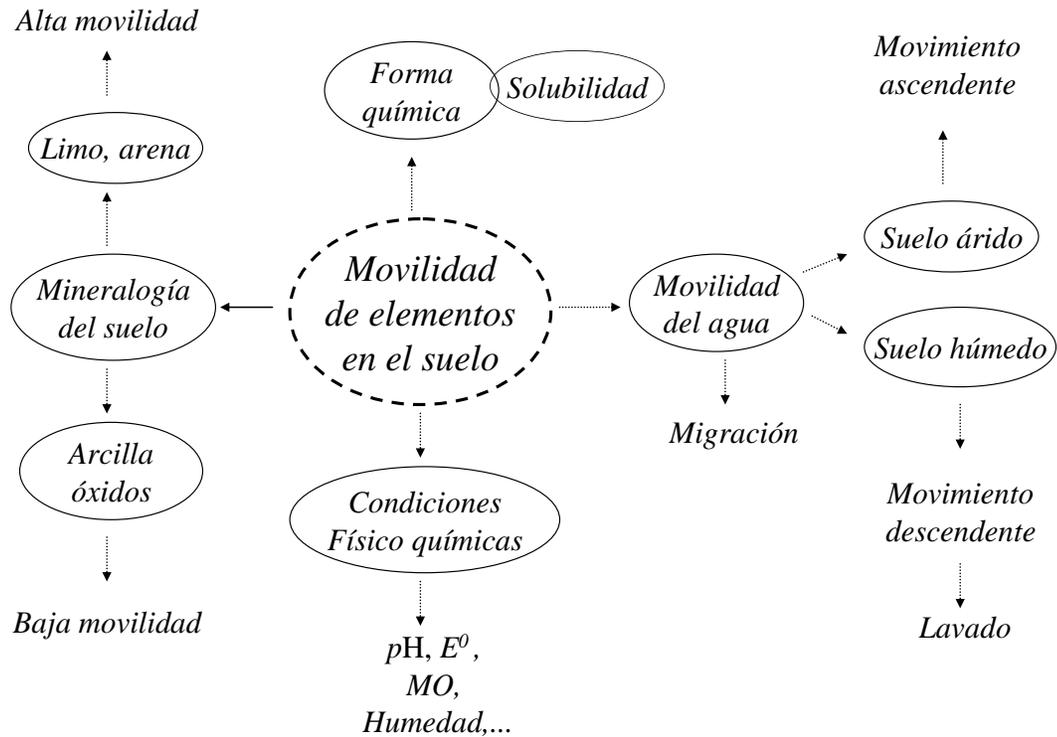


Figura AP2. Factores que condicionan la movilidad de los elementos en el suelo.

### **Solubilidad:**

La solubilidad se define como los gramos de soluto disueltos en 100 gramos de solvente a 20 °C, y es una propiedad de la sustancia que le permite disolverse en el solvente, que en nuestro caso es agua. Es bien conocido que esta propiedad depende de la temperatura y que por lo general tiende a aumentar con ésta. Sin embargo no siempre es así, ya que los sulfatos se vuelven insolubles después de cierta temperatura y el NaCl no cambia apreciablemente su solubilidad entre 10 y 100 °C. En el Cuadro AP4 se dan las solubilidades de algunas sales en los suelos.

Como primer ejemplo citaremos los nitratos y cloruros, que son sales de alta solubilidad y pueden permanecer en la solución del suelo largos períodos de tiempo antes de ser absorbidos por alguna planta y/o microorganismos, o simplemente ser evacuados del perfil de suelo por lavado si la cantidad de agua del suelo excede la capacidad de campo.

La temperatura y la fuerza iónica de la solución del suelo también afectan a las reacciones que controlan la concentración de nutrientes. Sus efectos son menores en comparación a los efectos del pH y el potencial redox, pero si pueden ser importantes para condicionar la actividad microbiana.

Cuadro AP4. Solubilidad de algunas sales en los suelos ( $K_{sp}$  = producto de solubilidad)

<i>Sales</i>	<i>Minerales</i>	$g_{sto}/100 g_{ste}$ ( 20°C)	$log K_{sp}$
<i>NaCl</i>	<i>Halita</i>	36,0	+ 1,55
<i>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>	<i>Tenardita</i>	19,4	- 0,86
<i>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O</i>	<i>Termonatrilita</i>	21,5	+ 0,1
<i>NaNO<sub>3</sub></i>	<i>Nitrato de sodio</i>	88,0	
<i>KCl</i>	<i>Sylvinita</i>	35,0	+ 0,80
<i>MgCl<sub>2</sub></i>	<i>Chloromagnésita</i>	54,5	+ 22
<i>CaCl<sub>2</sub></i>	<i>Hydrophilita</i>	74,5	+ 11,5
<i>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>	<i>Sulfato de potasio</i>	11,1	

*pH*:

El *pH* de la solución de suelo se puede considerar una de las dos variables maestras ya que los cambios de *pH* pueden modificar los ambientes bioquímicos, además de controlar procesos como la disolución, el intercambio iónico, la precipitación de especies insolubles, procesos redox, reacciones de formación de complejos entre otros. Todos estos procesos son de suma importancia en la elucidación de los flujos de especies químicas que atraviesan la solución de suelo, además de ser determinantes en el tiempo de residencia de estas especies en la misma.

A valores altos de *pH*, se favorece la adsorción y/o precipitación de especies catiónicas, por el contrario, la adsorción y/o precipitación de muchas especies aniónicas se favorece a valores bajos de *pH*.

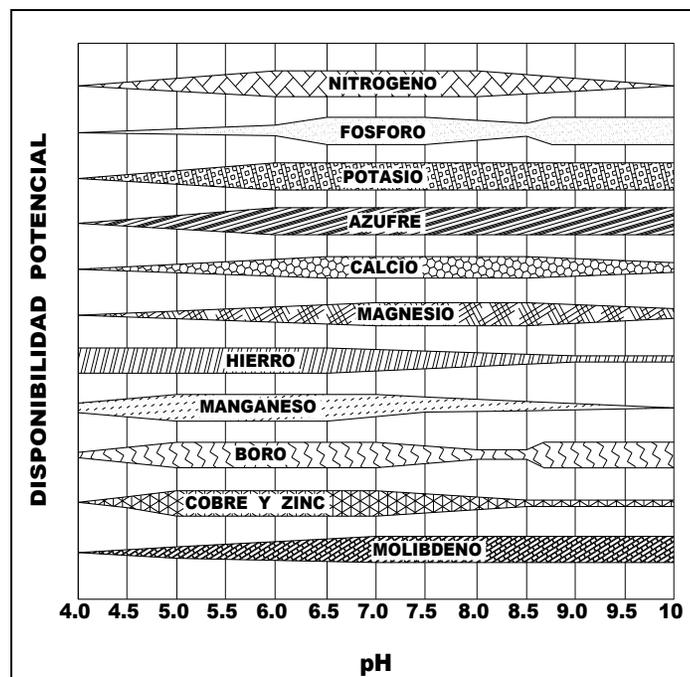


Figura AP 3. Solubilidades en función del valor del *pH*.

Los sulfatos pueden ser solubles en condiciones alcalinas o neutras pero en suelos ácidos tienden a ser adsorbidos por la fase sólida o entrar en unos procesos reductores para luego integrarse en constituyentes orgánicos.

En la Figura AP3 se muestra la disponibilidad relativa de algunos nutrientes como función del valor del pH. Las condiciones alcalinas en los suelos están asociadas por lo general con contenidos elevados de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en relación al  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ; debido a que muchos aniones forman compuestos más solubles con los primeros que con los segundos, estos encuentran una mayor libertad de movimiento en condiciones alcalinas, favoreciendo el lavado. La alcalinidad también puede movilizar algunas especies catiónicas ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ya que se favorece la formación de complejos orgánicos o hidroxílicos solubles.

El caso del aluminio merece especial atención, como lo podemos ver en el Capítulo 1 del Referencial dedicado a la descripción de los principales biogeoquímicos, en razón de las diversas formas iónicas que presenta y cuya solubilidad depende de los valores de pH y de las constantes de equilibrio  $K_{sp}$ . Entre las principales formas iónicas en la solución de suelo están:  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Al}_2(\text{OH})_4^{2+}$ ,  $\text{Al}_4(\text{OH})_{10}^{2+}$ ,  $\text{Al}_6(\text{OH})_{12}^{6+}$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ , además de las formas orgánicas acomplejadas solubles.

La solubilidad del aluminio es mínima entre pH 6 y 7, los cuales son valores comunes en muchos suelos, por lo que las formas predominantes son sólidas. Por lo tanto, la migración de estas especies a la solución de suelo es muy improbable en este rango de pH.

Para valores de pH inferiores a 5,5 los aluminosilicatos y los hidróxidos de aluminio empiezan a disolverse produciendo cationes  $\text{Al}^{3+}$  e hidroxialumínicos, los cuales pueden participar en reacciones de intercambio con las arcillas. Por el contrario, en medio alcalino,  $\text{pH} > 8$ , los hidróxidos insolubles comienzan a solubilizarse para formar los iones aluminatos  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ .

Al investigar la **especiación** del aluminio en la solución de suelo se pueden encontrar diferentes fracciones de aluminio soluble bajo la forma de complejos orgánicos e inorgánicos. Sin embargo, la biotoxicidad de estas formas es mucho menor que la de la forma iónica libre  $\text{Al}^{3+}$ . De hecho es esta última forma la que se relaciona mejor con toxicidad a la planta, más que el Al total soluble o el Al intercambiable (Al KCl M).

#### *Potencial redox:*

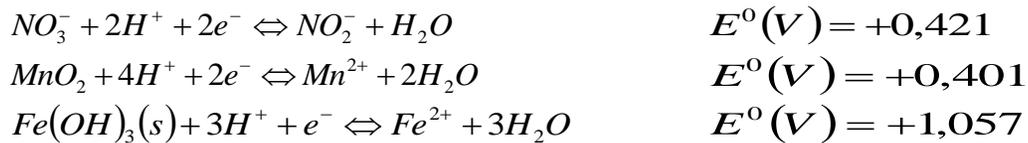
Ha quedado ya bien establecido que la variable pH es determinante en la dirección que toman algunos procesos en la solución de suelo. Sin embargo, las fluctuaciones en el contenido de agua en un suelo obligan a tomar en cuenta otra variable maestra, como lo son las condiciones REDOX que se expresan a través del "**Potencial Redox**".

Este Potencial Redox es una medida de la **intensidad** de las condiciones reductoras u oxidantes, es decir la tendencia en la solución de suelo, de aceptar o donar electrones, y la **capacidad** de ser reducida u oxidada se debe al contenido de especies donoras,  $\text{S}^{2-}$ , oceptoras,  $\text{Fe}^{3+}$ . El mismo afecta aquellos elementos que en el suelo, pueden existir en más de un estado de oxidación como son C, N, S, Fe, Mn, Cu, entre otros. Del estado de oxidación de estos elementos depende también su solubilidad y su movilidad en la solución del suelo.

El potencial redox puede variar considerablemente de un micrositio a otro (dentro o fuera de un micro-agregado por ejemplo), lo que relativiza el alcance de un diagnóstico global basado sobre la solución de suelo de un sistema tan complejo y heterogéneo como es el suelo.

Por ejemplo, bajo condiciones de saturación hídrica (o por encima), la falta de oxígeno puede ocasionar un medio reductor que termina por cambiar el pH del medio. Tal es el caso del cultivo de arroz en algunas zonas del Guárico y Cojedes donde se utilizan suelos inundados para este cultivo.

En estas situaciones, la actividad biológica es básicamente anaeróbica. Una vez consumido el oxígeno por los microorganismos, hay un descenso del potencial redox y un incremento de los procesos de reducción que consumen iones  $H^+$ , lo que ocasiona una subida de pH, la cual esta limitada hasta pH 7 por la acción buffer del  $CO_2$  (sistema  $H_2CO_3 - HCO_3^-$ ). En ausencia de anhídrido carbónico, el pH del suelo podría subir por encima de 7 a medida que los procesos de reducción progresan y consumen los protones. Entre los procesos de reducción que pueden ocurrir están:



Según la última ecuación, si la solución del suelo contiene poco oxígeno (o nada), la concentración de  $Fe^{2+}$  puede alcanzar niveles tóxicos.

Una vez que el agua esta drenada fuera del suelo, el oxígeno penetra por los poros; muchas de las reacciones de reducción se invierten y el potencial redox, (E) se hace más positivo. A diferencia de los procesos de reducción, las oxidaciones generan iones  $H^+$  por lo que los valores de pH tienden a disminuir, a menos que el suelo haya sido originalmente alcalino. De esta manera, la velocidad de difusión del oxígeno, y por ende de la aireación del suelo son importantes.

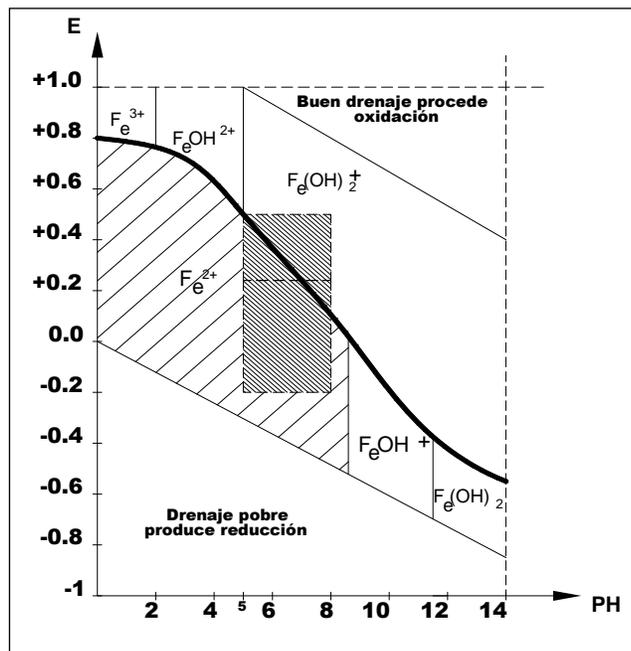


Figura AP4. Campos potencial – pH para la estabilidad del hierro.

Como regla general, si el suelo está bien aireado las formas de mayor valencia tienden a dominar, pero si el drenaje es pobre, se generan condiciones reductoras y predominarán las formas iónicas de menor valencia.

Sin embargo, los **campos de estabilidad química** de especies redox están definidas tanto por el Potencial Redox como por el pH (diagramas Pourbaix). En la Figura AP4, se muestra una representación gráfica  $E$  (V) vs pH el caso del hierro, las líneas representan los valores de  $E$  (V) y pH para los cuales dos especies pueden coexistir en equilibrio, y las superficies encerradas entre las líneas representan los dominios de estabilidad de las diferentes especies.

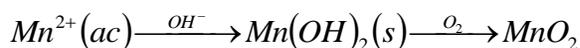
Se observa que si las condiciones son reductoras ( $E < 0$ ), la especie  $Fe^{2+}$  es estable a  $pH < 8$ . Si las condiciones son oxidantes entonces el  $Fe^{2+}$  permanecerá soluble sólo si el  $pH < 5$ . Si el  $pH > 8$  (suelos calcáreos) el  $FeCO_3$  será la forma que prevalece. Si las condiciones son oxidantes, las formas insolubles de óxido e hidróxido férrico serán las más estables sobre un amplio rango de pH. Sólo si el pH es extremadamente ácido y  $E > +0,8$  V, la forma iónica  $Fe^{3+}$  (y  $FeOH^{2+}$ ) permanecerá en solución.

El manganeso en el suelo puede existir en tres estados de oxidación:  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$  y  $Mn^{4+}$ , siendo la primera la forma preferencial en la solución de suelo y ambientes reductores. Por ser un cation divalente, puede ocupar posiciones de intercambio en las arcillas.

Esta forma de manganeso es esencial para la activación de ciertas enzimas (oxidadas, dehidrogenasas, decarboxilasas), es esencial para la formación de la chlorofila, al igual que el hierro y en la reducción de los nitratos. El manganeso trivalente es inestable en solución y se consigue bajo la forma  $Mn_2O_3$ , especialmente en suelos ácidos. La forma tetravalente,  $MnO_2$ , es la forma más estable e inerte de manganeso.

Por debajo de pH 7 la forma predominante de manganeso es el  $Mn^{2+}$  soluble, a menos que las condiciones sean muy oxidantes ( $E > 0,6$  V). Por lo tanto, en condiciones muy reductoras se pueden alcanzar niveles de toxicidad. A valores de pH superiores de 8 el manganeso precipitará como  $MnCO_3$  (suelos calcáreos), pero en condiciones oxidantes se formarán óxidos insolubles.

La oxidación del  $Mn^{2+}$  ocurre de manera espontánea en medio alcalino oxidante. El hidróxido manganeso formado reacciona con el oxígeno para producir  $MnO_2$  según:



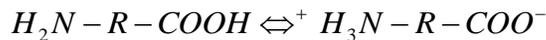
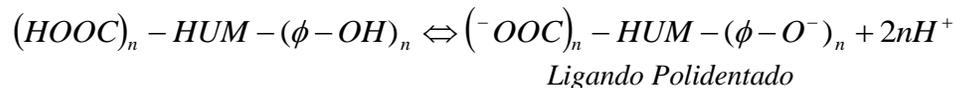
#### *Acomplejamiento de metales con la materia orgánica.*

La materia orgánica quelantes pueden ser no humificada o humificada. La primera comprende ácidos alifáticos simples, complejos aromáticos y ácidos heterocíclicos (ácido fórmico, aminoácidos, ácido tánico) y su concentración en el suelo es relativamente baja en comparación con los segundos los cuales son moléculas de gran tamaño con una mayor reactividad por la presencia de un número apreciable de grupos  $-COOH$ ,  $OH$ -fenol y  $-NH_2$ . Esto permite la realización de diversas reacciones que incluyen interacciones electrostáticas, formación de complejos, quelatos, adsorción, quimioadsorción, entre otros.

En general, los grupos funcionales carboxílicos,  $-COOH$  y  $OH$ -fenólicos son los que controlan la actividad química de la materia humificada. Los grupos carboxílicos empiezan a disociarse a pH 3 y la molécula húmica se carga negativamente:



A pH 9 los grupos  $OH$ -fenólicos comienzan a disociarse y la molécula adquiere una alta carga negativa:



Debido a la formación de estas cargas dependientes del pH pueden ocurrir diferentes interacciones. A valores bajo de pH puede ocurrir un intercambio de cationes mientras que a valores altos de pH, cuando los grupos fenólicos están disociados, la formación de complejos y la quelación adquiere mayor importancia.

Como muchos otros metales, el *Fe* y el *Al* pueden formar complejos órgano-metálicos de diversos tipos con constituyentes orgánicos. Casi cualquier metal puede servir como ácido Lewis (aceptor de electrones), incluyendo aquellos monovalentes ( $Na^+$ ,  $K^+$ ). El ligando (base Lewis) puede ser un anión como  $R - CH_2 - COO^-$ , o una molécula neutra, como  $NH_3$ . Además, estos complejos (o quelatos) formados pueden a su vez ser cationes, aniones o moléculas neutras.

Estas quelaciones pueden ser beneficiosas en casos de toxicidad aluminica, férrica o mangánica ya que los ligandos orgánicos pueden quelar el exceso del metal y de esta manera su concentración iónica en la solución de suelo disminuye. La solubilidad o dispersabilidad de estos complejos regula su transporte en la solución de suelo, tienen baja solubilidad e inmovilizan al metal. Esta es una manera efectiva de controlar la toxicidad aluminica en suelos ácidos. Los más solubles pueden llegar hasta la cercanía de las raíces donde son descompuestos por algún efecto rizosférico, permitiendo así la liberación del metal gradualmente.

### ***La solución del suelo como medio de reacción química***

El comportamiento de las especies químicas en la solución de suelo está gobernado, tanto por factores termodinámicos, como por factores cinéticos (Figura AP5). Los primeros, determinan el estado de equilibrio o no equilibrio de los procesos y/o reacciones que tienen lugar en la fase líquida, así como en la interfase sólido líquido. Los factores cinéticos tienen que ver con la rapidez con que tienen lugar procesos químicos (y bioquímicos), tanto en la fase líquida como en la interfase sólido líquido.

No es el objetivo del presente trabajo ahondar en la rigurosidad matemática de estos aspectos de la fisicoquímica de la solución de suelo. Sin embargo, es importante subrayar algunos puntos importantes a este respecto.

Desde un punto de vista **termodinámico**, la solución de suelo es un sistema abierto el cual intercambia materia y energía con los alrededores, por lo que su estudio en condiciones naturales exigirá ajustes en los cálculos y también en su interpretación.

La presunción de *equilibrio termodinámico*, puede aplicarse sólo a una fracción de las reacciones que ocurren tanto en la fase líquida como en la interfase sólido líquido; la gran mayoría de las reacciones no alcanzan un estado de equilibrio debido a las constantes perturbaciones que son impuestas al sistema. Sin embargo, a pesar de las serias limitaciones prácticas, la "*Teoría del Equilibrio Químico*" es importante, porque es sencilla y requiere de menos información.

El valor de la constante de equilibrio da información acerca de cuál es la reacción química que gobierna la actividad de los iones en la solución de suelo. Entre dos reacciones, la que cuente con una

constante de equilibrio mayor, se sucederá preferencialmente y será la que controle la concentración de los iones. Este modelo del equilibrio químico encuentra una aplicación muy amplia en la química de las soluciones acuosas y adquiere diferentes nombres dependiendo del tipo de reacción, es decir  $K_a$ ,  $K_b$ ,  $K_w$ ,  $K_{sp}$ ,  $K_f$ ,  $K_{exc}$ .

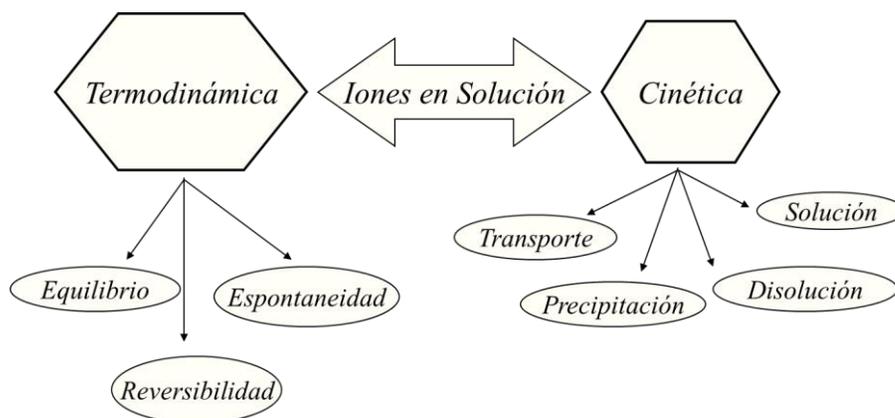


Figura AP5. Factores que gobiernan el medio de reacción.

Los principios de la *Termodinámica* son útiles al momento de predecir si una reacción dada puede ocurrir o no, pero son inútiles para proveer información acerca de la velocidad con que esa reacción puede ocurrir. Desde el punto de vista *cinético*, una gran variedad de reacciones químicas que se dan en la interfase suelo/solución presentan escalas de tiempo muy variadas.

Las reacciones de intercambio catiónico o adsorciones así como asociación de iones son extremadamente rápidas y se suceden en una escala de micro y milisegundos. Por el contrario, las cristalizaciones y solubilizaciones de minerales pueden sucederse a escalas de tiempo mucho mayores: horas, días, meses inclusive años.

El tipo de suelo puede afectar de manera significativa la velocidad de las reacciones. Por ejemplo, reacciones de adsorción son más rápidas en presencia de esmectitas y de Caolinita (milisegundos-segundos) pero más lentas en presencia de vermicuitas o minerales micáceos.

La mayoría de las interacciones en la interfase suelo-solución se describen por un modelo cinético de primer orden, aunque se han usado otros modelos sencillos como los de orden cero y orden 2.

### Conclusiones

La Solución de suelo forma parte de un sistema complejo conjuntamente con una fase sólida y otra gaseosa en estrecho equilibrio. Sus interrelaciones físicas y químicas están afectadas por sus respectivas propiedades, y otros factores como los termodinámicos y cinéticos.

La composición de esta solución de suelo dependerá de la composición de las fases sólida y gaseosa, así como de los aportes de enmiendas y fertilizantes al suelo. La primera, aporta nutrientes (macro y micro) por medio de intemperización de minerales primarios, solubilización y/o descomposición de la materia orgánica. La fase gaseosa aporta  $CO_2$ ,  $O_2$  y  $N_2$  dependiendo de sus presiones en el aire edáfico.

Estos nutrientes solubilizados en la solución de suelo, pueden estar en precario equilibrio con la fase sólida, ya que debido a la naturaleza dinámica de los procesos en el suelo, la composición de la misma no es constante ni en el tiempo ni en el espacio, por lo que es más importante considerar a la solución del suelo como un compartimiento iónico molecular transitorio y no como una solución de composición fija.

Elucidar y cuantificar estos flujos de nutrientes, requiere de un conocimiento más o menos exacto de los principios físico-químicos que gobiernan los procesos de transferencia y movilización de estos nutrientes a través de la solución del suelo, así como de la dinámica del agua en el suelo, la cual actúa como medio de reacción y transporte.

Para concluir estas consideraciones, es necesario insistir sobre las limitaciones de una visión demasiado abiótica y global de la relación suelo-solución que borra la grande heterogeneidad del suelo. Las diversas actividades biológicas pueden cambiar rápidamente en el tiempo y en el espacio las condiciones del sistema suelo-solución-planta. Por ejemplo, estas condiciones pueden variar muchísimo en la cercanía inmediata de las raíces con lo que se llama el efecto rizosférico. Fuera de la rizósfera, también existen diferencias permanentemente inducidas por las diversas biomásas como por ejemplo, entre las partes internas y externas de los macro-agregados.

De esta manera, la valorificación y estudio de la solución de suelo como compartimiento transitorio de nutrientes, podría renovar el concepto de fertilidad del suelo sobre la base de una realidad distinta a la considerada hasta ahora por los análisis de rutina, que no toman en cuenta los factores termodinámicos y cinéticos, así como los biológicos y el entorno rizosférico.

### **La solución del suelo: Aproximaciones experimentales para su muestreo**

Las definiciones expuestas en la parte anterior, no pasan de ser modelos simplistas e ideales con los que podemos conceptualizar a la solución de suelo. Sin embargo, desde una perspectiva experimental, la definición de solución de suelo debe incluir la metodología utilizada para su obtención ya que esta tiene una influencia importante en la composición de la solución extraída (Schwab, 2000).

Esto último, se debe a que lamentablemente no se puede extraer la solución de suelo sin alterar más o menos su composición. Por lo tanto, el método escogido para obtener una muestra de la solución de suelo debería minimizar el impacto sobre esta composición química, aunque ya el simple muestreo lo hace.

Se han utilizado diversos métodos y dispositivos para el muestreo de la solución de suelo durante más de un siglo, encontrándose resultados contradictorios concernientes a las diferentes técnicas de muestreo. Lamentablemente, el tema del muestreo de la solución de suelo escasea en la literatura a pesar de su importancia en la obtención de resultados exactos sobre el estatus de fertilidad de los suelos.

#### ***Métodos para el muestreo de la solución del suelo***

Se han realizado muchos estudios acerca de los métodos para la obtención de una muestra de la solución de suelo (Litaor, 1988), al igual que estudios que correlacionan los resultados obtenidos. Estos métodos pueden ser de naturaleza física o química según se basen en la aplicación de principios físicos o en el uso de soluciones extractantes.

## Métodos físicos

Los métodos físicos se basan en una variedad de principios físicos como la *gravedad*, *capilaridad*, *succión*, *centrifugación* entre otros. Algunos de estos métodos son un tanto empíricos y tienen limitaciones respecto al grado de alteración del suelo, a la contaminación de la solución extraída, obtención de volúmenes adecuados para el análisis químico, rango de potencial de succión aplicado, entre otros. Por lo tanto, la composición de la solución obtenida puede variar de un método a otro.

Estos métodos presentan ventajas y desventajas, no todos son utilizables en todas las situaciones, por lo que hay que decidir cuál es el adecuado para una aplicación determinada. Sin embargo, los mismos no son excluyentes y un estudio completo de la solución de suelo podría requerir del uso de varios de ellos, acoplados o no.

- Desplazamiento en columna
  - . Compactación
  - . Centrifugación
- Muestreadores pasivos por capilaridad
- Succión activa
- Gravedad o lisimétricos

### *Desplazamiento en columna*

Este método se puede aplicar bajo la modalidad de **Desplazamiento por Gravedad, DG**, (Vedy y Bruckert, 1979) o **Desplazamiento por Succión, DS**, (Wolf y Graveel, 1986). En la primera, la solución de suelo es desplazada por el efecto pistón que ejerce un líquido que percola lentamente, desplazando total o parcialmente la misma. El volumen de la solución recuperada, está fuertemente influenciado por la textura del suelo y por el contenido de humedad.

El grado de compactación adecuado para un efectivo desplazamiento se debe determinar en muestras separadas. Si la compactación es excesiva la percolación se hace muy lenta, pero si la compactación es insuficiente se formarán canales preferenciales de drenaje, por los que se escurrirá la solución desplazante, contaminando la solución de suelo. Esta operación requiere de tiempo y un operario con experiencia en el empaquetamiento de las columnas.

Como líquidos desplazantes se han utilizado una variedad de estos como etanol, acetona, (desplazamiento miscible), tetracloruro de carbón (desplazamiento inmisible), entre otros. Los dos primeros, presentan serios problemas por su acción solubilizadora y el tetracloruro de carbono es altamente tóxico, además se desconoce su efecto sobre las sustancias desplazadas en la solución de suelo.

Este método tiene la ventaja de permitir el uso de muestras de suelo en las condiciones de campo, que no se requiere tamizar o moler, manteniéndose el contenido gaseoso de la muestra. Sin embargo, el método es desventajoso ya que hay que usar una cantidad grande de muestra (> 500 g), y el tiempo requerido para la recolección de una cantidad suficiente de solución de suelo es largo y puede variar entre 3 y 10 h, lo que hace poco práctica su aplicación rutinaria. Otra desventaja es que la aplicación de esta técnica requiere de destreza y supervisión permanente.

El desplazamiento por succión es un desplazamiento asistido por una presión negativa, lo que permite la conexión en serie de varias columnas, reduciendo así el tiempo de obtención de la solución de suelo, utilizando menor cantidad de muestras. Esta característica hace al método por succión más atractivo para operaciones de rutina. Una vez instalada la columna, el experimento debe llevarse a cabo en corto tiempo a fin de evitar la pérdida de humedad y el crecimiento de microorganismos.

### Lisimetría

La **Lisimetría por Gravedad, LG**, (método pasivo) recolecta y mide el volumen de agua de drenaje, que ha percolado por un determinado volumen de suelo que está limitado para evitar las pérdidas o adiciones laterales que perturbarían el balance hídrico (de Rooij y Stagnitti, 2002). La barrera puede ser un cilindro de acero inoxidable (o cemento) con una profundidad dada y dotado de un sistema de recolección, el cual puede ser un cono (o sombrero chino) invertido completado con arena lavada, conectado a recolectores calibrados (el agua recolectada se puede pesar) para la medición de drenaje. En la Figura AP6 se muestra el diagrama de una instalación lisimétrica de campo.

Este método presenta la ventaja de que no requiere de una fuente externa que genere un gradiente de presión, por lo que es de utilidad en condiciones de campo desatendidas. Pero requiere de instalaciones laboriosas, lo que representa una desventaja técnica y no permite la extracción de la solución de suelo retenida a potenciales mayores de  $20 \text{ kPa}$  ( $0,2 \text{ atm}$ ), siendo su intervalo usual de aplicación menor a  $10 \text{ kPa}$  ( $0,1 \text{ atm}$ ).

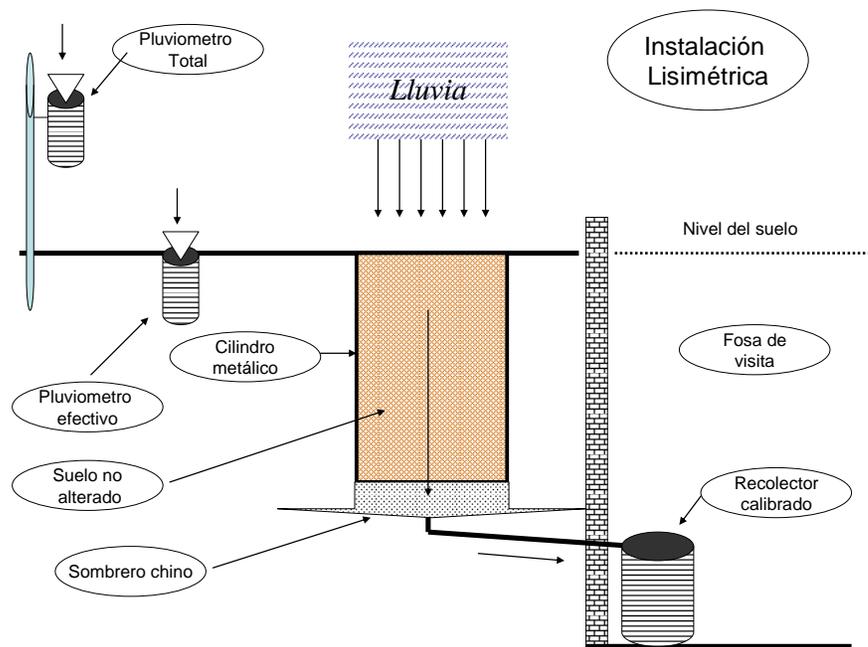


Figura AP6. Instalación disimétrica de campo

En algunos casos, las mediciones se realizan sobre perfiles de suelo reconstruido, rellenando los lisímetros con el suelo. En este caso, se modifica la macroporosidad y por lo tanto la velocidad de percolación y de esta manera, la composición de la solución percolada. A fin de evitar este inconveniente, muchos experimentos se realizan sobre monolitos de suelos no perturbados pero aislados con contenedores de volumen variable de entre 150 y 500 L. El diseño de los mismos es relativamente sencillo pero su construcción es difícil.

### *Compactación*

El método pretende extraer la solución del suelo por medio de la aplicación de una presión elevada sobre la columna de suelo, con lo que se produce una disminución de los poros del suelo, expulsándose la solución contenida en ellos (Fernandez *et al.*, 1980). La presión necesaria para la extracción de la mayoría del agua capilar puede variar entre 14000 a 170000 kPa (140 - 170 atm), aunque algunos experimentadores han utilizado presiones de hasta 300000 kPa (3000 atm).

El método de la prensa hidráulica para la obtención de la solución de suelo, ha sido objetado con el argumento de que las altas presiones ejercidas sobre el suelo perturban los equilibrios físico-químicos con la fase sólida del suelo y, por consiguiente, cambia la composición de la solución obtenida. Por esta razón, esta práctica es poco recomendada en ningún tipo de suelo.

### *Métodos de succión*

Estos métodos aprovechan un gradiente de presión negativo, a fin de extraer el agua disponible para las plantas (muestreo pasivo por capilaridad). Como fue mencionado antes, la solución del suelo se limita al agua disponible en el suelo para las plantas. El agua libre que está sujeta a **potencial gravitatorio** (0 a -33 kPa) no está disponible para las plantas, ya que la fuerza de gravedad la aleja de las raíces antes de que la planta pueda disponer de ella.

Igualmente, el agua retenida por fuerzas de adhesión a la fase sólida de suelo (-3000 kPa a  $-10^6$  kPa) tampoco está disponible para las plantas, ya que está tan fuertemente retenida por las partículas que la fuerza de succión de las raíces no es suficiente para absorberla. Por lo tanto, el agua que queda disponible es la que está retenida entre la capacidad de campo (-33 kPa o 0,33 bares) y el punto de marchitez (-1500 kPa o 15,00 bares).

La extracción de la solución del suelo mediante la succión activa, se puede hacer por medio de materiales porosos como cápsulas de cerámica, de teflón, extractores radiculares tipo *Rhizon* u otro tipo de materiales porosos. Éstos permiten extraer solución que está retenida entre 70 y 90 kPa. El volumen de la solución obtenida puede variar de acuerdo a la textura, conductividad hidráulica y contenido de humedad del suelo estudiado.

La escogencia del material poroso es importante en razón de la reactividad química del mismo con la solución extraída. Esta reactividad puede manifestarse como liberación de elementos como calcio, magnesio, aluminio, sílice o como adsorción de, por ejemplo, fosfatos. Esto obliga a utilizar procedimientos de lavados con ácidos.

### *Extractores tipo Rhizon*

El extractor tipo *Rhizon* es un tubo de un polímero orgánico hidrófilo y poroso ( $\phi_{\text{ext}} = 2,5$  mm,  $\phi_{\text{int}} = 1,5$  mm,  $\phi_{\text{poro}} = 0,1 - 0,2$   $\mu\text{m}$ ) de una cierta longitud (10 cm), teniendo uno de los extremos cerrado y el otro abierto para su acoplamiento a un dispositivo de succión (Rhizon SMS, 2003).

En la Figura AP7 se muestra un esquema del dispositivo *Rhizon*. En el interior del tubo hay una guía sólida y flexible que le da rigidez al dispositivo extractor, de manera que pueda ser introducido en el suelo sin que se deforme. Una vez introducido el extractor en el suelo, la solución de éste se puede extraer por medio de un vacío aplicado en el extremo abierto.

Este método puede extraer la solución del suelo retenida entre 70 y 90 *kPa* y el volumen de solución extraído varía con la textura del suelo, propiedades hidráulicas y humedad del mismo (Rhoades y Ester, 1986).

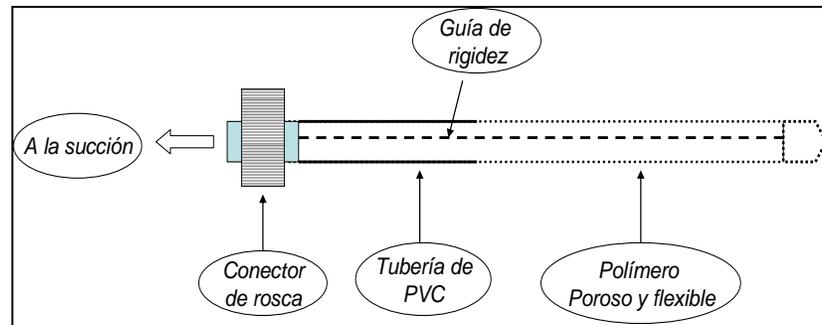


Figura AP 7. Esquema del extractor Rhizon.

#### Métodos de succión en copa porosa

En este método se utiliza un recipiente recolector de cerámica (o teflón) llamado “copa porosa” (Figura AP8), la cual se introduce en el suelo a una profundidad dada (Corwin, 2002, Pansu *et al.*, 1998). La velocidad de flujo durante el muestreo es función de la succión aplicada en la copa y de la permeabilidad del suelo; mientras más uniforme sea la distribución del tamaño de partícula, más uniforme será la velocidad de muestreo.

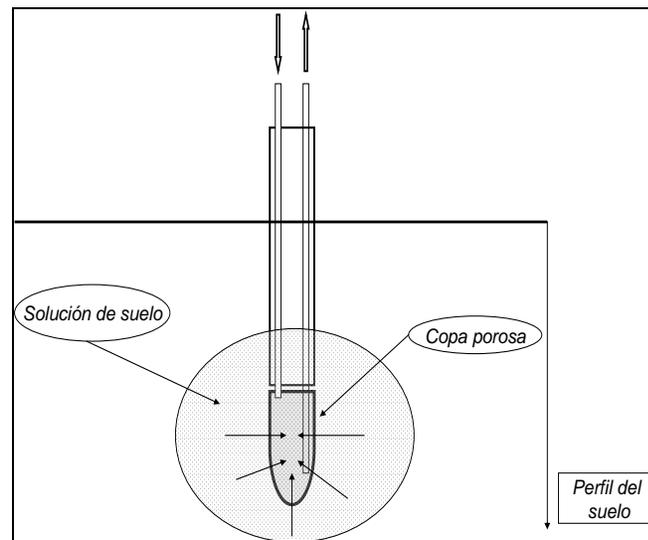


Figura AP 8. Funcionamiento de la copa porosa.

La permeabilidad del material poroso debe ser mayor que la propia permeabilidad del suelo saturado. De esta manera, la succión de la fase líquida es posible sólo si la presión capilar en el suelo es mayor que en la copa de muestreo. Se pueden crear depresiones de hasta 10 *kPa* (0,1 *atm*) con mecanismos de succión simples, sin embargo, estos dispositivos permiten teóricamente extraer la solución del suelo retenida entre 70 y 80 *kPa* (Regalado *et al.*, 2005).

El gradiente de potencial generado por la copa de succión actúa sobre todos los poros, de manera que el movimiento de la fase líquida tiene lugar con velocidades de flujo que depende del diámetro de los poros. En los poros más largos se puede generar un “Efecto Canal” o caminos preferenciales en el movimiento de la fase líquida succionada.

Si hay un gradiente de concentración causado, por ejemplo, por un frente de movimiento de agua succionada retardada, entonces la succión o gradiente de potencial puede tener una influencia sobre la composición de la muestra, debido a que el influjo de los poros más grandes es proporcionalmente mayor.

El efecto canal puede jugar un papel importante cuando existen gradientes de concentraciones entre secciones con poros pequeños y grandes. Tales gradientes pueden ser el resultado de actividad biológica (raíces y microbios), y en presencia de tales procesos se pueden obtener composiciones diferentes de las soluciones de suelo obtenidas por centrifugación. Estos efectos se ven limitados cuando el muestreo se hace durante intervalos de tiempo más cortos y tomando tamaños de muestra menores. Esto permite una mayor resolución espacial y temporal del muestreo.

Uno de los inconvenientes de este método, es que no es fácil mantener el nivel de flujo y el potencial de succión constante y con valor conocido, debido a la obturación de parte de los poros por partículas de fracción fina del suelo. Igualmente, se presenta una caída de presión negativa a medida que la copa se va llenando con la solución extraída.

### *Tensionic*

Otra modalidad de aplicación consiste en llenar la copa porosa con agua destilada; la misma se conecta con el exterior por medio de dos tuberías capilares que permiten extraer la solución o agregar agua destilada (Moutonnet *et al.*, 1989). En este método, si el suelo es lo suficientemente homogéneo, una diferencia de *presión osmótica* entre la fase líquida del suelo (solución del suelo) y el agua destilada colocada dentro de la copa porosa, obliga a la primera a fluir desde el suelo hacia el interior de la copa hasta que se establece un equilibrio iónico dentro y fuera de la copa.

Este último método se ha utilizado para la determinación de nitratos por medio de un dispositivo denominado “*TENSIONIC*” (Moutonnet *et al.*, 1989). En el mismo, la copa de cerámica utilizada es de alta porosidad para facilitar el flujo de los iones de la solución del suelo al interior de la copa. El equilibrio de concentración se puede establecer en una semana o menos.

Los *Tensionics* se pueden instalar en serie a una cierta profundidad o por grupos a diferentes profundidades y obtener mediciones secuenciales in situ no destructivas del potencial hidráulico, concentración de iones en la solución y si es necesario mediciones isotópicas, específicamente de <sup>15</sup>N.

La ventaja principal de la copa porosa, es la relativa simplicidad para su instalación, la cual produce poca perturbación en el perfil del suelo. No se obstaculiza el flujo de agua ni de gases y se pueden realizar muestreos de manera continua. Son útiles en experimentos de campo donde no necesita supervisión constante; igualmente, al dispositivo de succión se puede acoplar un instrumento de medición con electrodos selectivos por medio de una bomba peristáltica, que porta la muestra a la celda de medición. De esta manera, se pueden realizar mediciones in situ.

### Aspectos prácticos del uso de la copa porosa

Las críticas realizadas a las copas porosas han sido por su capacidad para adsorber animalitos y/o para contaminar la muestra (Schwab, 2000). Sustancias orgánicas de interés pueden ser retenidas en la cerámica porosa. Igualmente, el área muestreada se desconoce, ya que es influenciada por la depresión aplicada, entre otros factores como humedad, textura del suelo (Morrison y Lowry, 1990).

Estos materiales pueden liberar aluminio (Hughes y Reynolds, 1990), sin embargo, esta liberación de aluminio decae después de varias extracciones, lo que permite el uso de la copa en suelos con valores de *pH* superiores a 4,5, previo lavado con ácido y estabilizada en el campo. En el Cuadro AP3 se muestra el análisis elemental de dos tipos de copas porosas.

La copa *P80* contiene básicamente óxido de aluminio, mientras que la copa tipo *SMC* es básicamente óxido de silicio con cantidades significativas de *Ca* y *Mg*. Estas serían más adecuadas para ser usadas en suelos ácidos, con un pretratamiento y equilibradas en el campo.

Cuadro AP3. Análisis elemental de dos tipos de copas porosas

	% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	% SiO <sub>2</sub>	% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	% CaO	% MgO	% K <sub>2</sub> O	% Na <sub>2</sub> O	PPI
<b>P80</b>	65	29	0,6	0,1	0,1	0,3	0,1	0,3
<b>SMC</b>	8	69	0,5	3,7	10,2	0,9	0,4	0,4

La adsorción de solutos de la solución de suelo, es un problema importante relacionado con el uso de la copa porosa. Dependiendo de la sustancia, algunas reacciones pueden tener lugar originando las adsorciones y/o precipitaciones. Las reacciones de adsorción son reversibles, pero las velocidades de la adsorción y de la desorción son diferentes, siendo la desorción por lo general más lenta.

Por lo general los solutos en concentraciones mayores de 0,1 *mM* no son afectados, pero a concentraciones menores la adsorción es mucho más probable, especialmente para aquellos metales traza que se adsorben selectivamente.

El establecimiento de los equilibrios entre la fase sólida y las fases adsorbidas, causa cambios rápidos en la concentración. Esto puede resultar en una subestimación de las altas concentraciones y una sobre estimación de las concentraciones traza y, por lo tanto, errores significativos en el cálculo de los balances de flujos.

Debe ponerse atención a las alteraciones de la muestra por filtración de coloides y macromoléculas, también por precipitación de fases sólidas (así como adsorciones) sobre la superficie de la copa porosa. Los coloides pueden ser sustancias orgánicas así como óxidos de hierro y aluminio que tienden a polimerizar.

Igualmente, la solución puede estar sobresaturada con respecto a la fase sólida y la misma puede precipitar durante la percolación a través de la pared de la copa porosa. Tal es el caso de los fosfatos e hidróxidos de aluminio. Estas deposiciones pueden reducir la permeabilidad de la copa porosa.

Pueden ocurrir procesos microbiológicos en el sistema de muestreo ya que este no es estéril, y la actividad de los microorganismos puede alterar la muestra. Como resultado de esto, la concentración de  $H^+$ ,  $(NH_4)^+$ ,  $(NH_3)^-$  así como especies orgánicas pueden verse afectadas. Igualmente el *pH* puede alterarse y puede ocurrir una amonificación microbiana. Por lo tanto, el volumen de muestra debe ser pequeño y la conservación debe ser a bajas temperaturas y con protección de la luz solar.

### *Instalación de la copa porosa*

Antes de poner en uso una copa porosa nueva se deben tomar en consideración algunos aspectos importantes. Las mismas deben ser remojadas en ácido clorhídrico diluido durante un tiempo prudencial a fin de remover contaminantes. Este lavado es importante en el caso de que se desee determinar elementos traza.

La instalación se realiza perforando un hoyo en el suelo con un barreno de diámetro adecuado. Para obtener un buen contacto hidráulico entre la pared de la copa y el suelo, se realiza una suspensión de suelo acuosa o barro de baja viscosidad y se rellena el hoyo antes de introducir la copa. Cuando ésta es introducida, la suspensión sella cualquier vacío entre la pared de la copa y el suelo. A la instalación le sigue un período de estabilización, las primeras muestras deben ser desechadas y los primeros resultados merecen un examen cuidadoso

### *Métodos acoplados*

En casos donde los métodos anteriores no den buenos resultados, se puede recurrir al acoplamiento de la succión activa con otro método con el objeto de tener acceso al agua contenida en el suelo a potenciales superiores (zona de instauración). Tal es el caso de los suelos de textura fina donde el agua puede estar fuertemente retenida, o en zonas del perfil del suelo no saturadas.

Recientemente se ha probado con éxito la combinación de extractores radiculares tipo *Rhizon* y la hoya de presión tipo Richards, el cual puede acceder a potenciales hídricos de hasta 600 *kPa* con niveles de contaminación mínimos (Regalado *et al.*, 2005).

Un cilindro con la muestra del suelo y el *Rhizon* instalado son colocados dentro de una olla de presión (olla Richards), la cual tiene un acople lateral para la salida del dispositivo extractor. Se cierra la olla y se aplica una presión controlada de aire comprimido.

El sistema permite la instalación de varios extractores en serie, incrementando así el volumen de solución extraída. Sin embargo, la aplicación de una presión con aire comprimido permite al  $CO_2$  del aire disolverse con mayor facilidad en el agua del suelo, disminuyendo el *pH* de la misma.

Esto puede traer como consecuencia la alteración química de la solución del suelo por disolución de especies químicas desde la fase sólida del suelo, tal es el caso del aluminio y el hierro cuya solubilidad aumenta en medio ácido.

### *Centrifugación diferencial*

Para la obtención de muestras de solución de suelo retenida por encima de 100 *kPa* se recurre a la centrifugación. Con esta metodología, la solución del suelo es separada de la fase sólida mediante la aplicación de una *fuerza centrífuga* variable (Whelan y Barrow, 1980). El tiempo y la velocidad de centrifugación pueden variar dependiendo de los requerimientos, y la fuerza aplicada varía directamente proporcional con la velocidad angular y con el radio de giro según la expresión:

$$G = \omega^2 \times r$$

En general, el volumen de la solución obtenida depende del tipo de suelo y del tiempo de centrifugación. Para suelos de textura gruesa, la solución se recupera en los primeros minutos de la centrifugación, pero para suelos de textura fina se requiere más tiempo. En el Cuadro AP4 se enlistan los tipos de centrifugas comúnmente utilizadas en los laboratorios de ciencia de suelo.

Cuadro AP4. Tipos de centrifugas

Tipo	<i>rpm</i>	Fuerza G	Obs
Baja velocidad	3000 - 5000 8000 – 15000	1200 – 5500 7000 – 20500	Cavidad aislada
De alta capacidad (4 – 6) L	6000		Refrigerada
De alta velocidad	15000 - 30000	26000 – 64000	Refrigerada
Ultracentrífuga	80000 – 100000	> 600000	Refrigerada

El método de centrifugación puede aplicarse bajo tres modalidades: Centrifugación a través de un filtro, centrifugación con desplazamiento inmiscible y ultracentrifugación, la cual permite la aplicación de una fuerza centrífuga (presión positiva) hasta de 1500 *kPa*.

Para la recolección de la solución del suelo, se han utilizado distintos dispositivos, la mayoría de ellos con tubos de centrifugación concéntricos y diversos elementos filtrantes.

#### *Centrifugación con desplazamiento inmiscible*

El método de centrifugación ha sido utilizado conjuntamente con el desplazamiento inmiscible, donde ciertos líquidos orgánicos con densidades mayores que 1, como el tetracloruro de carbono (*TCC*) y el etilbenzilacetato (*EBA*) son utilizados como líquidos desplazantes. El primero de estos ha sido cuestionado por su toxicidad, sin embargo el *EBA* no es tóxico, pero su precio en el mercado es más alto.

Los datos reflejados en el Cuadro AP5 muestran que con excepción del aluminio, la composición iónica de la solución de suelo desplazada por ambos líquidos es similar. Las concentraciones de aluminio son mayores en la solución desplazada por el *EBA*, pero no se encuentra en la literatura una razón que explique este hecho. Por lo tanto, no debería utilizarse el *EBA* si las determinaciones de aluminio son importantes para el caso.

Cuadro AP5. Comparación de la composición de soluciones de suelo obtenidas por centrifugación y desplazamiento inmiscible con *TCC* y *EBA*

Muestra	L.D	V mL	pH	Ca mg kg <sup>-1</sup>	Mg mg kg <sup>-1</sup>	K mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>	P mg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>
1	EBA	12	4,6	2,01	2,94	47,0	0,04	0,06	0,67
1	TCC	7,3	4,9	1,96	2,81	43,7	0,05	0,06	0,12
2	EBA	12	4,75	127	100	33,9	0,04	0,07	0,81
2	TCC	7,3	5,09	126	100	32,2	0,05	0,07	0,14

Datos de la literatura sugieren que la composición de la solución de suelo obtenida por los diversos métodos expuestos anteriormente (Adams *et al.*, 1980), es muy parecida en lo que se refiere a calcio, magnesio, potasio, sulfatos y similares. Hay pocas variaciones de *pH* las cuales son ocasionadas por la acción del *CO*<sub>2</sub> disuelto.

Para obtener la solución del suelo retenida por encima de 500 *kPa*, se puede utilizar la centrifugación de alta velocidad o la ultracentrifugación (Elkhatib *et al.*, 1987). Sin embargo, este método es criticable porque utiliza muestras alteradas del suelo y se requiere de un gran número de muestras dado el pequeño volumen recolectado.

No menos importante está el alto costo de los equipo, lo que representa una limitación económica para muchos laboratorios con presupuestos en general demasiado bajos.

## Métodos químicos

Los métodos químicos de obtención de la solución de suelo se han basado casi exclusivamente en el uso de extractantes de naturaleza química, y para la evaluación de la fertilidad se utilizan una gran variedad de métodos analíticos, por lo que muy a menudo se usa un extractante diferente casi para cada nutriente. En muchos países se introdujeron soluciones diferentes para cada elemento basados en el conocimiento sobre la disponibilidad que se tenía para el momento, así como de las posibilidades de análisis químico existente (Houba y Novosamsky, 1990).

Las propiedades de los reactivos utilizados como fuerza iónica, pH, potencial redox, entre otros pueden cambiar drásticamente los ambientes químico y bioquímico, y el acercamiento de los resultados a la realidad se puede ver afectado. El resultado de todo esto es que, en ocasiones, el agrónomo se ve obligado a confiar más en su experiencia pragmática que en algunos resultados provenientes de esta metodología.

De esta manera, el análisis químico de suelo se convierte en algo complicado, ya que obliga a utilizar toda una serie de solventes extractantes (distintos del agua) para la extracción, tanto del *nutriente inmediatamente disponible*, como el *potencialmente disponible* (Jackson, 1970).

Esta situación trae consigo complicaciones, debido a que al momento de analizar un suelo se deben usar toda una serie de solventes y extractantes específicos, lo cual genera una gran carga de trabajo para el laboratorio, limitando a su vez las posibilidades de automatización. Por último, se usan distintos tipos de reactivos en grandes cantidades, lo cual produce también grandes cantidades de desechos contaminantes.

### Extracción con solventes

En la actualidad se utilizan diversos procedimientos de extracción con solventes “suponiendo” que existe correlación entre las cantidades de los nutrientes extraídos con un solvente dado, y las cantidades de estos mismos en la solución de suelo. En el Cuadro AP6 se muestran algunos procedimientos estándar para el análisis de suelo.

Cuadro AP6. Procedimientos de extracción estándar para análisis de suelo

Parámetro	Extractante	Condiciones
pH	H <sub>2</sub> O, KCl 1M	1:5 v/v suelo seco
K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup>	HCl 0,5M	1:10 p/v suelo seco
Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup>	NaCl 0,5M	1:20 p/v suelo seco
N min	KCl 0,5M	1:2,5 p/v suelo húmedo
Al int.	KCl 1M	
CIC	NH <sub>4</sub> OAc 1M	pH 7
Conductividad	H <sub>2</sub> O destilada	Extracto de saturación
B	H <sub>2</sub> O destilada	1:10 p/v Agua en ebullición
Zn <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup>	CH <sub>3</sub> COOH 0,4 M	1:40 m/v
Mn <sup>4+</sup>	CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 1M	1:20 m/v

### Caso fósforo:

El fósforo se encuentra en los suelos tanto en forma inorgánica como orgánica, y ambas afectan la cantidad de este nutriente “disponible” para la nutrición de las plantas. Sin embargo, esta disponibilidad depende de factores como solubilidad, *pH* del suelo, actividad microbiana y descomposición de la materia orgánica.

Se han desarrollado diversos procedimientos químicos para la extracción de ese “Fósforo disponible”, el cual se define dependiendo del método de extracción que se utilice. Actualmente más de media docena de fósforos disponibles distintos han sido formulados según las extracciones que se muestran en el Cuadro AP7.

Sin embargo, todos estos métodos tienen sus objeciones acerca de su relación con la realidad del suelo estudiado. Por ejemplo, la extracción Olsen, con bicarbonato 0,5 *M* y a *pH* 8,5 podría disolver parte del fósforo orgánico debido al valor alto de *pH* (Tan, 1996).

Por lo tanto, este fósforo “disponible” podría tener un componente “no disponible”, mientras que el extracto de agua a *pH* aproximadamente neutro se podría asemejar más a la solución del suelo. Los otros extractos con soluciones ácidas, pueden incluir fosfatos minerales insolubles que en condiciones normales no están disponibles para las plantas.

Cuadro AP7. Extracciones utilizadas para la obtención del fósforo disponible (Tan, 1996)

Reactivos de extracción	Suelo/reactivo	Nombre
0,025 N HCl + 0,03 N NH <sub>4</sub> F	1:10	Bray 1
0,1 N HCl + 0,03 N NH <sub>4</sub> F	1:17	Bray 2
0,5 M NaHCO <sub>3</sub> , <i>pH</i> 8,5	1:20	Olsen
0,05 N HCl + 0,025 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1:4	Mehlich1
0,2 N CH <sub>3</sub> COOH + 0,2 N NH <sub>4</sub> Cl + 0,015 N NH <sub>4</sub> F + 0,012 N HCl	1:10	Mehlich2
0,2N CH <sub>3</sub> COOH + 0,25 N NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> + 0,015 N NH <sub>4</sub> F + 0,013 N HNO <sub>3</sub> + 0,001 M EDTA	1:10	Mehlich3
0,002 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> tampón a <i>pH</i> 3 con (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1:100	Truog
0,54N CH <sub>3</sub> COOH + 0,7N CH <sub>3</sub> COONa	1:10	Morgan
0,02 N Ca-Lactato + 0,02 N HCl	1:20	Egner
1 % Ácido cítrico	1:10	Ác.Cítrico

### Extractos de KCl, NH<sub>4</sub>Cl y CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> 1M

El *KCl* *M* y el *NH<sub>4</sub>Cl* *M*\* son extractantes similares y pueden extraer todos los cationes intercambiables de interés con resultados similares. Sin embargo, con el primero de estos no se puede determinar el potasio intercambiable. Por otro lado, existen diferencias en el *pH* de estas soluciones ya que el cloruro de amonio es una sal con hidrólisis ácida, mientras que el cloruro de potasio es una sal no hidrolizable\*.

El aluminio intercambiable, tradicionalmente se ha extraído con *KCl* *M* y determinado por EAA por EAA ICP sin embargo, la realidad es que no se puede saber bajo qué forma química está presente el aluminio, y los resultados de la determinación pueden ser afectados de un error sistemático por incluir un aluminio asociado a la materia orgánica, así como polímeros que no necesariamente son tóxicos para la planta.

Se ha demostrado por otro lado que la extracción de aluminio intercambiable con  $KCl$  M en muestras de suelos de carga variable no es una medida cuantitativa de la cantidad del mismo debido a que la hidrólisis del  $Al^{3+}$  genera protones que son adsorbidos por la superficie de carga variable, provocando a la final una sobresaturación y la precipitación de polímeros de aluminio que presentan cargas positivas que son adsorbidas por la superficies cargadas negativamente (Dahlgre y Walker, 1994).

Por otro lado, la determinación de aluminio en extractos de  $KCl$  M, al igual que el cloruro de amonio, por Absorción Atómica también presenta problemas de interferencia física por obstrucción del capilar del nebulizador y/o ranura del quemador. También puede haber variaciones en la viscosidad de la solución aspirada, lo que trae consigo cambios en la velocidad de aspiración y cambios en la señal de absorbancia.

El procedimiento estandarizado para la determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico, *CIC*, en suelos ácidos es la suma de las bases intercambiables extraídas con el  $CH_3COONH_4$  1 M (a pH 7)\* y el aluminio intercambiable con  $KCl$  1M (Jackson, 1964; Tan, 1996)<sup>32</sup>.

Este método tiene dos inconvenientes básicos. El primero, es que requiere de dos extracciones y dos análisis por separado y el segundo, que deriva del primero, y es que se consume más tiempo en la determinación de la *CIC*. Por supuesto, el costo de toda la operación también se eleva, y la situación se torna más complicada cuando hay gran número de muestras para ser analizadas.

Por otro lado, el uso de EAA permite sólo determinaciones individuales con una curva de calibración para cada elemento a determinar, lo que consume mucho tiempo y aumenta las posibilidades de cometer errores en el procedimiento. Sería entonces deseable de utilizar un solo extractante ( $CaCl_2$  0,01 M) y realizar las determinaciones de los cationes, inclusive el aluminio de manera secuencial por EEA ICP en pocos minutos. También existe la posibilidad de análisis simultáneo (Skoog y West, 2001).

Por supuesto, disponer de un espectrofotómetro de Absorción Atómica o un Espectrómetro de Emisión en Plasma acoplado, depende de las posibilidades económicas del laboratorio de análisis. El precio de compra de un espectrómetro ICP puede ser hasta 5 veces el precio de un espectrofotómetro de Absorción, por lo que los análisis realizados con este último suelen ser más económicos.

---

<sup>32</sup> \* El Cloruro de potasio es una sal que proviene de ácido y base fuerte, por lo que en solución acuosa no sufre hidrólisis y el pH de la misma está gobernado por el  $K_w$  y por lo tanto es 7. Este no es el caso del  $NH_4Cl$  la cual es una sal que proviene de ácido fuerte y base débil, por lo que el catión  $NH_4^+$  sufre una hidrólisis ácida y el pH final de la solución es ácido y depende de la concentración de la sal.

$$pH = 7 - \frac{1}{2} pK_a + \frac{1}{2} pC_{sal}$$

El acetato de amonio es una sal que proviene de un ácido débil ( $CH_3COOH$   $K_a = 1,8 \times 10^{-5}$ ) y de una base débil ( $NH_4OH$   $K_b = 1,8 \times 10^{-5}$ ), por lo que tanto el anión como el catión sufren hidrólisis. El anión acetato sufre una hidrólisis alcalina mientras que el catión amonio sufre una hidrólisis ácida. El pH de una solución de este tipo está dada por:

$$pH = 7 + \frac{1}{2} (pK_a - pK_b)$$

Siendo los valores de las constantes iguales, el pH de la solución resultante es 7

## Extractos acuosos

Los extractos acuosos son utilizados comúnmente en muchos laboratorios, sin embargo la proporcionalidad entre la concentración de los iones y la cantidad de agua agregada, no está garantizada debido al incremento de la solubilidad de algunos iones (debido al valor del  $K_{sp}$ ) y a la alteración de la actividad de los mismos (Adams, 1995).

Estos extractos pueden ser preparados en diferentes relaciones suelo-agua, y debido a que las cantidades relativas de los diferentes solutos están influenciadas por la relación suelo/agua a la cual se hace el extracto, esta debe ser estandarizada a fin de que los resultados puedan ser interpretados de manera universal.

La elección de la relación suelo/solución utilizado para la extracción de las sales solubles depende de varios criterios, en particular de la finalidad buscada y la rapidez de ejecución deseada.

Entre los extractos acuosos más utilizados están la pasta saturada o **extracto de saturación** (Van Den Ende, 1989; Simón y García 1999), y las relaciones suelo/agua de 1:1, 1:5 y 1:10. Estas últimas son más fáciles de preparar, ya que la pasta saturada requiere más tiempo para su elaboración. Sin embargo, procesos como peptización, hidrólisis, intercambio de cationes, solubilización de minerales, entre otros, pueden introducir errores, los cuales se pueden incrementar al aumentar la dilución (Roades, 1982).

Se ha utilizado el extracto acuoso en la relación 1:0,5 en contacto por 12 h para la determinación de ácidos orgánicos y fosfatos en insectisoles aplicando Electroforesis Capilar de Zona, utilizando un benzoato como electrolito soporte, aplicando un voltaje de 20 kV y detección *UV vis.* (Ahumada *et al.*, 1999). El suelo fue separado por centrifugación y el sobrenadante fue filtrado a 0,45  $\mu m$ .

La influencia de la relación suelo/agua, tiene un efecto significativo en las propiedades químicas que se pueden ver a través de las mediciones de *pH* a diferentes relaciones suelo/agua. A medida que la cantidad de agua aumenta, el valor del *pH* se incrementa. En la Figura AP9 se muestran los valores de *pH* para dos tipos de suelo diferentes a distintas relaciones suelo/agua.

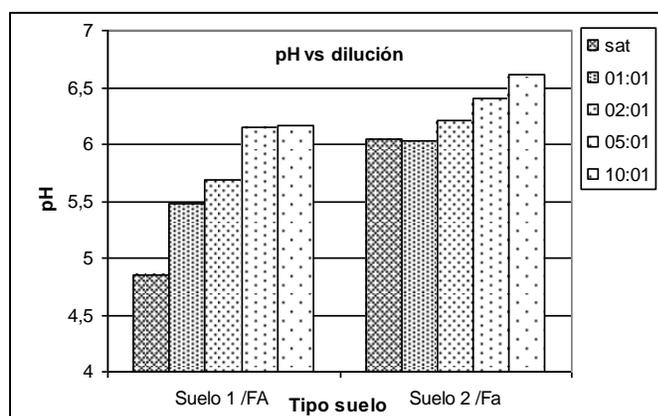


Figura AP9. *pH* vs relación suelo/agua.

### *Método de la pasta saturada*

El método del extracto de pasta saturada, se utiliza con el fin de acercarse lo mejor posible de la solución a partir del cual se abastecen las plantas (Schwab, 2000). Es el método de referencia internacional preconizado por el Laboratorio de Riverside (US Salinity Laboratorio Personal; Richards, 1954).

Ante la dificultad de obtener un extracto representativo de la solución del suelo entre la capacidad al campo y el punto de marchitez permanente, este método estandarizado consiste en saturar la muestra de suelo hasta cerca de su límite de liquidez, reposar la pasta obtenida para que se establezcan los equilibrios respectivos y filtrar por succión o centrifugar (Sirviendo, 1975; Baize, 1988).

Van Den Ende (1989), en estudios de invernadero, determinó la composición de la solución de suelo, del extracto acuoso y de la pasta saturada, determinando las relaciones entre las diferentes composiciones. La solución de suelo fue obtenida por medio de una prensa hidráulica, incrementando la presión de manera escalonada entre 2,5 y 10 MPa.

Se destaca el hecho de que el método de la prensa hidráulica, para la obtención de la solución de suelo, ha sido objetado con el argumento de que la presión ejercida sobre el suelo puede inducir algunas reacciones químicas, o puede alterar los equilibrios químicos en el ambiente químico de la muestra.

Los resultados obtenidos muestran una mala correlación entre la composición del extracto acuoso con la composición de la solución de suelo, haciéndose necesario el uso de factores de corrección de dilución para mejorar los coeficientes de correlación ( $r = 0,686 - 0,926$ ).

Mejores correlaciones se obtuvieron con el extracto de la pasta saturada; sin embargo, también se hizo necesario el uso de factores de corrección por la dilución para mejorar los coeficientes de correlación ( $r = 0,917 - 0,926$ ).

Entonces, para suelos húmedos, la solución de suelo se obtiene mejor por medio del extracto al agua 1/10, después de 12 h de agitación mecánica se centrifuga a 2000 rpm y se filtra con filtro millipore 0,2  $\mu\text{m}$ , reservando el método del extracto de la pasta saturada para los suelos secos (Van Den Ende, 1989).

### *Extractos por agua caliente*

El agua caliente permite solubilizar una mayor cantidad de sustancias en comparación con el agua fría. Una extracción al agua caliente constituye pues un indicador de los elementos y compuestos potencialmente extractables. Sin embargo, no todas las sales incrementan su solubilidad con la temperatura y tal es el caso de los sulfatos, para los cuales su solubilidad empieza a decrecer después de cierta temperatura.

Este extracto se ha recomendado para la determinación del boro (NF X31-122, 1993). Los protocolos son bastante difíciles de estandarizar, ya que sobre algunos suelos la disolución no parece alcanzar límite con la duración de ataque.

### *Extractos diluidos*

En esta técnica más rápida, se trata de poner en contacto un peso dado de suelo con un volumen o peso variable de agua. Una de las consecuencias de la dilución, es que la concentración iónica de los extractos más o menos diluidos es teóricamente inferior a la del extracto saturado por el simple hecho de la dilución.

En una primera aproximación, se podría esperar que el factor multiplicativo necesario para pasar de la solución saturada a la diluida sea proporcional a la dilución. Sin embargo, se constata a menudo que la conductividad medida sobre los extractos diluidos, es superior a la conductividad calculada (el Brusq y Alquiler, 1982).

Esto se debe a que algunos extractos, sobre todo el extracto salino 1/10, provocan una importante redisolución de las sales con relación al extracto saturado. Resulta que la relación entre las conductividades de los distintos extractos no es directamente proporcional al volumen de agua, sino que prácticamente varía en función de distintos factores tales como: la textura de los suelos, el nivel de salinidad y la composición iónica de las soluciones.

#### *Extracto de $\text{CaCl}_2$ 0,01 M*

Con el interés en la búsqueda de una simple extracción donde se puedan medir todos los parámetros para el diagnóstico de la fertilidad, se han obtenido resultados prometedores utilizando una solución de  $\text{CaCl}_2$  0,01 M (Houba *et al.*, 1996).

Siendo el calcio el catión más importante en el complejo de intercambio, este facilita el intercambio de otros cationes en solución relativamente diluida. Esta extracción se realiza a una fuerza iónica similar a la de la solución del suelo; además produce buena coagulación.

Entre otras ventajas del uso del  $\text{CaCl}_2$  0,01 M como extractante, está la posibilidad de medir diferentes fracciones de nitrógeno así como *P* y *C* al lado de los cationes más importantes, micronutrientes, metales pesados y materia orgánica. Favorece la automatización para la determinación de varios parámetros a la vez en el mismo extracto, es económico en comparación con los procedimientos tradicionales y es más amigable con el ambiente.

Se ha obtenido buena reproducibilidad y exactitud en los análisis químicos, además de buenas correlaciones en relación con otros métodos rutinarios clásicos en el análisis del estatus nutritivo de suelos (Houba *et al.*, 1990).

Por último, debido a que se pueden determinar varios nutrientes y otras especies en el mismo extracto, la interpretación de los resultados puede considerar las relaciones entre ellos.

Los valores de la medición del pH en  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{KCl}$  M no muestran diferencias significativas (Aitken y Moody, 1991). Sin embargo, en suelos fuertemente ácidos, el  $\text{KCl}$  M puede ser más eficiente que el  $\text{CaCl}_2$  desplazando el aluminio adsorbido. Por otro lado, en suelos calcáreos, la situación del equilibrio químico respecto del carbonato de calcio es diferente en el  $\text{KCl}$  M que en el  $\text{CaCl}_2$  0,01 M.

Los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{2+}$  así como los aniones  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  presentan buena correlación con ambos solventes. Igualmente, se puede medir una fracción de nitrógeno orgánico soluble que puede servir a estudios de mineralización. Se ha probado la extracción con el  $\text{CaCl}_2$  tanto en frío como en caliente, sin embargo, no hay diferencias significativas entre ambos extractos, siendo suficiente una extracción a 20 °C. En el Cuadro AP8 se muestran los coeficientes de correlación para algunos parámetros medidos tanto en  $\text{KCl}$  (suelo húmedo), como en extracto acuoso y  $\text{CaCl}_2$  0,01 M.

Cuadro AP8. Correlaciones obtenidas utilizando diferentes extractantes en comparación con  $\text{CaCl}_2$  0,01 M

Parámetro	Tipo suelo	Extractante	Rango medido	R
pH	Todos	KCl M	3,5 – 7,5	0,99
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	3,5 – 7,5	
$\text{K}^+$	F. Arenoso	HCl/ Ac Oxalic	50 – 2,30 $\text{mg kg}^{-1}$	0,96
	F. arcilloso	$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	35 – 220 “	
		HCl/ Ac Oxalic	80 – 400 “	
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	40 - 130	0,88
$\text{Na}^+$	Todos	HCl/ Ac Oxalic	0 – 60 “	0,95
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	0 – 60 “	
$\text{Mg}^{2+}$	Todos	NaCl 0,01 M	5 – 200 “	0,99
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	10 – 140 “	
$(\text{NO}_3)^-$	Todos	KCl M	1 – 30 “	0,93
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	1 – 30 “	
P	Calcáreo	$\text{H}_2\text{O}$	7 – 28 “	0,96
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	0,1 – 16 “	
	No calcáreo	$\text{H}_2\text{O}$	7 – 52 “	0,89
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	0,1 – 16 “	
B	Todos	$\text{H}_2\text{O}$ (Pto. eb.)	0,1 -1,6 “	0,86
		$\text{CaCl}_2$ 0,01 M	0,001 – 0,5	

## CONCLUSIONES

De esta revisión bibliográfica, se espera que el lector salga convencido de que no hay solución ni rápida ni fácil, al problema del acceso a la solución del suelo para poder utilizarla como compartimiento central del sistema *suelo-solución-planta*.

Se requiere de más investigación sobre diferentes tipos de suelos para una mejor evaluación de los métodos de muestreo, para el abordaje de los diversos problemas. Igualmente, el investigador deberá hacer un compromiso entre la solución ideal y la práctica. No existe una solución única al problema del muestreo de la solución de suelo y el diseño del tipo de muestreo, así como su costo, es dependiente del tipo de problema que se quiere estudiar.

La metodología utilizada para la obtención de la solución de suelo, tiene una influencia importante en la composición de la solución extraída, por lo que desde una perspectiva experimental se debe especificar el método para la obtención de la misma. Esto se debe a que no se puede extraer la solución de suelo sin alterar mas o menos su composición. Por lo tanto, el método escogido para la obtención de una muestra de la solución de suelo, debería minimizar el impacto sobre esta composición química, aunque ya el simple muestreo lo hace.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Adams, M. 1995. Fundamentos de Química de Suelos. Univ. Central de Venezuela, CDCH, Cap. 2, pag. 91.
- Adams, F., C. Burmester, N. V. Hue y F. L. Long. 1980. A comparison of column displacement and centrifuge methods of obtaining soil solutions. *Soil Sci. Soc. Am J.* 44: 733 – 735.
- Ahumada, I., J. Mendoza y L. Ascar. 1999. Determination of organic acids and phosphate in soil aqueous extracts by capillary zone electrophoresis. *Commun. Soil Sci. And Plant Anal.* 30 (1 – 2): 213 – 220.
- Dahlgren, R. A. y W. J. Walker. 1994. Solubility Control of KCl Extractable Aluminum in soils with Variable Charge. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 25 (11 y 12), 2201 – 2214.
- De Rooij, G. H. y F. Stagnitti. 2002. Spatial and temporal distribution of solute leaching in heterogeneous soils: analysis and application of multisampler lysimeter data. *J. of Contaminant Hydrol.*, 54 : 329 – 346.
- Elkhatib, E. A., J. L. Herm y T. E. Staley. 1987. A rapid centrifugation method for obtaining soil solution, *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 51: 578 – 583.
- Corwin, D. L. 2002. *Suction cups*, Sección 6.1.3.1. pag. 1261 – 1266. En: Dane, J. H. y Topp, G. C., (eds), *Methods of Soil analysis*, Part 4, SSSA Book Series:5.
- Fernández, M. L., F. Nacia y O. Gaytan. 1980. Estudio Comparativo de dos métodos de obtención de la solución del suelo: aplicación al estudio de la solución de suelos podsólicos de Galicia. *Anales de Edafología y Agrobiología.* 39, 1587 – 1605.
- Foth, H. D. 1990. Fundamentals of Soil Science, 8<sup>th</sup> Ed. Chap. 11, pag 164, Chap 12, pag. 186, Chap. 13, pag 210.
- Houba, V. J., I. Novosamsky, Th. M. Lexmond y J. J. van der Lee. 1990. Applicability of 0,01 M CaCl<sub>2</sub> as a single extraction solution for the assessment of the nutrient status of soils and other diagnostic purposes. *Común. Soil Science and Plant Anal.* 21 (19 y 20), 2281 – 2290.
- Houba, V. J., Th. M. Lexmond, I. Novosamsky y J. J. van der Lee. 1996. State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment. *The Science of Total Environment*, Nr.178, pag. 21 – 28.
- Jackson, M. L. 1970. Analisis Quimico de Suelos. 2da Ed. Ed Omega, Barcelona, cap 5, pag 126.
- Litaor, M. I. 1988. Review of Soil Solution Samplers. *Water Resources Research.* Vol. 24, Nr. 2. pag. 727 – 733.
- McBride, M. B. 1994. Environmental Chemistry of Soil. Oxford Univ. Press, Chap. 9, pag. 308
- Morrison, R. D y B. Lowry. 1990. *Soil Science*, 149: 308 – 316.
- Mutonet, P., G. Giraud y C. Marol. 1989. Bul. du Group Francais d'huidimetrie neutronic et des techniques asociés. Nr. 26, 11 – 29.
- Pansu, M., J. Gautheyrou y J. Y. Loyer, J. Y. 1998. L'Analyse du Sol : Echantillonnage, Instrumentation et contrôle. Ed. Masson, Paris. cap.1.1, pag. 24.
- Regalado, C. M., A. Ritter, R. M. Rodríguez Gonzáles, y A. R. Socorro. 2005. Diseño Experimental para la Extracción de la Solución del Suelo en Régimen de Instauración. *Estudios de la zona no saturada del suelo*, vol. VII, Samper Calvete y A. Paz Gonzáles.
- Rhizon, S. M. S. 2003. Operating instructions. Sección 19. 21. Rhizon Soil Moisture Sampler. Disponible en : [www.eijkkamp.com/files/5089IM2-19211e](http://www.eijkkamp.com/files/5089IM2-19211e) Rhizon soil moisture sampler.pdf.
- Rhoades, J. D. 1982. Soil Solution. pp. 167. En : Pages, A. L (ed.) *Methods of Soil Analysis*, part 2. Am. Soc. of Agronomy. Inc. Soil Sci Soc. Of Am. Inc. Pub. Wisconsin, USA.
- Schwab, A. P. 2000. The Soil Solution. pp. B – 85. En: E. Sumner (ed.) *Handbook of Soil Solution* Malcome, CRC Press, N. Y.

- Simón, M. y I. García. 1999. Physico – Chemical properties of the soil – saturation extracts: stimation from electrical conductivity. *Geoderma*, vol. 90 (1-2), 99 – 109.
- Skoog, D. A., F. J. Holler y T. A. Nieman. 2001. **Principios de Análisis Instrumental**, 5ta Ed. McGraw Hill, Madrid, Cap 8, pag. 203, cap. 9, pag 219 y cap. 10, pag. 245, Cap. 30, pag. 846.
- Sposito, G. 1989. *The Chemistry of Soils*, Oxford University Press.
- Tan, K. H. 1996. *Soil Sampling, Preparation and Analysis*. Marcel Dekker, N. Y. Inc. Cap. 9, pag. 123 – 130.
- Van Den Ende, J. 1989. Estimating the chemical composition of the soil solution of glasshouse soil 1. Composition of soil solution and aqueous extracts. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 37, 311 – 322.
- Van Den Ende, J. 1989. Estimating the chemical composition of the soil solution of glasshouse soil 2. Relationships between the compositions of soil solution and aqueous extracts. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 37, 323 – 334.
- Vedy, J. C. y S. Bruckert. 1979. Le Solution du Sol, composition et signification pedogenetique. pp. xx En : P. Duchaufour y B Souchier, Ed., *Pedologie 2: Constituants et Propietes du Sol*. Masson, Paris.
- Whelan, B. R. y N. J. Barrow. 1980. A study of a method for displacing soil solution **by** centrifuging with an immiscible liquid, *J. of Environ. Qual.* 9, 315 – 319.
- Wolt, J. D. 1994. *Soil Solution Chemistry: Application to environmental Sience and Agriculture*. John Wiley and Sons, N. Y. pag. 13.
- Wolt, J. y J. G. Graveel. 1986. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50, 602 – 605.

## **BIBLIOGRAFÍA TEMÁTICA**

### **Definiciones sobre Solución de suelo**

- Adams, F. 1974. Soil Solution. En *The plant root and it`s environment*. Carson, E. W. Ed. Univ of Virginia Press. p 441 – 481.
- Absalom, J. P., S. D. Young y N. M. Crout. 1995. Radio – Caesium fixation dynamics: Measurement in six cumbriam soils. *European J. of Soil Science*, 46, 461 – 469.
- Brady, N. C. 1974. *The nature and properties of soils*. Mc Millan Pub. Co. N.Y.
- Callot, G., H. Chamayou, C. Maertens y L. Salsak. 1982. Les Interactions sol racine. Incidence sur la nutrition minerale. INRA, Paris, Chap 2 deuxiem part, pag, 149.
- Casanova, E. 1991. *Introducción a la cienci del suelo*. CDCH UCV, Fac agronomía. Caracas.
- Hétier, J. M. 2005. Ciclo de los nutrientes en los suelos cultivados. pp. 141. En Hetier, J. M. y López, R. (eds.), *Tierras Llaneras de Venezuela*, cap. 7,
- Leij, F. J y M. Th. van Genuchten. 2000. Solute Transpot. pp. A – 183. En: Malcome , E. Sumner (ed) *Handbook of Soil Solution*, CRC Press, N. Y. Chap. 6.
- Tan, K. H. 1993. *Principles of Soil Chemistry*. 2<sup>nd</sup>. Ed., Marcel Dekker, New York. Cap 3, pag 31.

### **Métodos de obtención de la solución del suelo**

- Elkhatib, E. A., J. L. Herm y T. E. Staley. 1987. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 51: 578 – 583.
- Ahumada, I., J. Mendoza, y L. Ascar. 1999. Determination of Organic acids and phosphate in soil aqueous extracts by Capillary Zone Electrophoresis. *Commun. Soil Sci. And Plant Anal.* 30 (1 – 2), 213 – 220.

- Aitken, R. L. y P. W. Moody. 1991. Inter-relationships between pH measurements in various electrolytes and soil solution in acidic soils. *Aust. J. Soil Res.*, 29, 483 – 491.
- Djurhuus, J. y O. H. Jacobsen. 1995. Comparison of ceramic suction cups and KCl extraction for the determination of nitrate in soil. *European Journal of Soil Science*, 46, 387 – 395.
- Rhoades, J. D. y J. D. Ester. 1986. Solute Contents. pp. 985 – 1006. En: Klute, A. (ed), *Methods of Soil Analysis : Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, 2da Ed. ASA – SSSA, Madison, Wisconsin.
- Vedy, J. C. y S. Bruckert. 1979. "Le Solution du Sol, composition et signification pedogenetique. pp xx. En : P. Duchaufour y B. Souchier, Ed., *Pedologie 2: Constituants et Propietes du Sol*. Masson, Paris.
- Whelan, B. R. y N. J. Barrow. 1980. A study of a method for displacing soil solution by centrifuging with an immiscible liquid. *J. of Environ.Qual.* 9, 315 – 319.

**Roberto López Falcón, Jean Marie Hétier,  
Danilo López Hernández, Richard Schargel, Alfred Zinck**  
Editores

**TIERRAS LLANERAS DE VENEZUELA**  
*...tierras de buena esperanza*



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**  
Consejo de Publicaciones  
2015

Título de la obra: **Tierras Llaneras de Venezuela**  
...tierras de buena esperanza

Editores: **Roberto López Falcón, Jean Marie Hétier**  
**Danilo López Hernández, Richard Schargel**  
**Alfred Zinck**

Arbitrado y publicado por el Consejo de Publicaciones de la  
Universidad de Los Andes  
Av. Andrés Bello, antiguo CALA, La Parroquia  
Mérida, Estado Mérida, Venezuela  
Telefax (+58274) 2713210, 2712034, 2711955  
e-mail cpula@ula.ve  
<http://www.ula.ve/cp>

Colección: Tecnología  
Serie: Ingeniería  
1ª edición en CD Rom, 2015

Reservados todos los derechos  
© Roberto López Falcón, Jean Marie Hétier, Danilo López Hernández  
Richard Schargel, Alfred Zinck

Diagramación: Consejo de Publicaciones  
Diseño de Portada: Consejo de Publicaciones

Hecho el Depósito de Ley  
Depósito Legal FD2372015329  
ISBN 978-980-11-1781-0

Mérida, Venezuela, 2015