



MÉTODOS DE FRACCIONAMIENTO FÍSICO DE LA MATERIA ORGÁNICA

ROSA MARY HERNÁNDEZ-HERNANDEZ

rmhdo@unesr.edu.ve

Durante mucho tiempo, los métodos más comúnmente usados para medir y caracterizar la materia orgánica del suelo (MOS) se han basado en el uso de extractantes químicos que permiten determinar el C orgánico y las sustancias húmicas (SH); sin embargo, este tipo de fraccionamiento tiene como limitante el hecho que no permite establecer la relación entre la dinámica de la MOS y la disponibilidad de nutrientes, debido a que no mide las fracciones de materia orgánica biológicamente activas (Cambardella y Elliot, 1994; Barrios *et al.*, 1996a). En consecuencia, a partir del fraccionamiento físico de la MOS han podido ser definidas las fracciones de materia orgánica que están directamente relacionadas con el ciclado de nutrientes. Este método incluye técnicas de separación por tamaño y/o densidad, y evita cambios químicos de la MOS. Éstas técnicas pueden ser menos destructivas y más selectivas, y los resultados obtenidos de las fracciones de suelo físicamente separadas pueden estar relacionados más directamente con la estructura y función de la materia orgánica y de los ecosistemas y agroecosistemas.

El fraccionamiento de tamaño se basa en que la MOS, en la fracción del tamaño de las arenas (>53 μm), la cual recibe el nombre de materia orgánica particulada (POM), es por lo general más lábil que la materia orgánica asociada a las partículas de limo y arcilla. Mientras que el fraccionamiento de densidad se fundamenta en que durante la humificación parte de la materia orgánica se asocia más con la fracción mineral y, por lo tanto, ocurre la formación de complejos orgánico-minerales de alta densidad.



El fraccionamiento de densidad representa un método útil para separar la materia orgánica en componentes que son distintos química y físicamente. Por este método la POM es removida del suelo por flotación en agua o en soluciones densas, cuyos valores de densidad pueden variar entre 1 – 2 g/cm³ (Cuadro 1). De esta forma, es posible separar la materia orgánica que no está firmemente unida a los componentes minerales del suelo.

El fraccionamiento físico del suelo que usa separación por densidad puede ayudar a evaluar la dinámica de la MOS, debido a la posibilidad de separar desechos de plantas parcialmente descompuestas (fracción ligera), materia orgánica que está adsorbida sobre superficies minerales o que está secuestrada dentro de los agregados del suelo. La fracción ligera (FL) es un material relativamente inalterado y de origen más reciente que la fracción pesada (FP) caracterizada por una alta relación C/N, tiene una rápida tasa de recambio, y su densidad específica es menor que los minerales del suelo. En algunos casos, si la solución usada para la separación tiene una densidad cercana a 2 g/cm³, dentro de esta fracción se puede incluir material amorfo más pesado. Mientras que la FP incluye los complejos orgánico-minerales de la MOS, tiene baja relación C/N, su tasa de recambio es más lenta y su densidad específica es más alta debido a su íntima asociación con los minerales del suelo.

Cuadro 1. Soluciones usadas para el fraccionamiento físico de la MOS

Solución	Densidad (g/cm³)
Agua	1
Na(PO ₃) ₆ + NaHCO ₃ + MgSO ₄	1,2
Cloruro de calcio	1,5
Tetracloruro de carbono	1,59



Ioduro de sodio	1,59
Ioduro de sodio	1,6
Bromuro de zinc	1,6
Ioduro de sodio	1,65
Ioduro de sodio	1,7
Solución de Toulet K_2HgI_4	1,8
Polytungstato de sodio	1,8
Bromoformo/espíritu de petróleo	2,00
Bromoformo/etanol	2,00
Bromoformo/etanol + surfactante	2,00
Tetrabromoetano/benceno	2,00
1,2 dibromo 3 cloropropano + surfactante	2,06
Ludox	1,13 y 1,37

Fuente: Elaboración propia

Si bien el fraccionamiento físico desde el punto de vista metodológico y de información del comportamiento dinámico de la MOS pudiera ser más adecuado, existen variaciones del método en función del tipo de soluciones inorgánicas y los pretratamientos usados. Entre las soluciones inorgánicas usadas en la separación de densidad (Cuadro 1) se incluyen politungstato de sodio ($1,85 \text{ g/cm}^3$), NaI ($1,7 \text{ g/cm}^3$) y, recientemente Meijboom *et al.*, (1995) han desarrollado un nuevo método en el que utilizan como medio de separación una suspensión de sílice (Ludox), ajustada a dos valores de densidad $1,13$ y $1,37 \text{ g/cm}^3$. Esta técnica presenta ciertas ventajas con relación a los otros medios utilizados, entre ellas: Es económica, el medio usado no es tóxico y permite el fraccionamiento de muestras



grandes de suelo (500 g). Además, el método permite recuperar tres fracciones de materia macroorgánica con diferentes grados de transformación:

1. **Fracción ligera:** Consistente de residuos de planta reconocibles ($<1,13 \text{ g/cm}^3$).
2. **Fracción intermedia:** Material parcialmente humificado. ($1,13 - 1,37 \text{ g/cm}^3$).
3. **Fracción pesada:** Material orgánico amorfo. ($>1,37 \text{ g/cm}^3$).

Este fraccionamiento de densidad fue desarrollado en la fracción del tamaño de las arenas (materia macroorgánica, $> 150 \mu\text{m}$), debido a que el C orgánico de esta fracción es más lábil que el C orgánico de las fracciones asociadas con arcilla y limo.

En nuestro laboratorio usamos los siguientes métodos de separación:

1. Fraccionamiento físico usando como medio de separación el agua, densidad (1 g/cm^3) (el más sencillo y recomendado para EPES): se pesan 250 g de suelo secado al aire y pasado por un tamiz de 2 mm. En una ponchera o recipiente plástico grande, se mezcla el suelo con agua corriente o mejor destilada, si es posible, la cual es añadida con una manguerita a presión formando aproximadamente un ángulo de 45° de inclinación de manera de romper los agregados de suelo sin salpicar. También te puedes ayudar con la mano mezclando con el agua y apretando las pelotitas de suelo. Dejar sedimentar un rato, se observará material orgánico flotando en el agua (raicillas, semillitas, hifas, pedacitos de hojitas, cualquier material particulado), luego con cuidado verter el agua con el material particulado flotando (el suelo ha sedimentado en el fondo de la



ponchera) en un envase plástico o beacker de 500 mL previamente pesado, pero pasando esa agua color amarillo o marrón (mientras mas clara mejor) por dos tamices de 2 mm (mesh 10) y 0.25 mm (mesh 60). Todo aquel material particulado flotando que pasa por un tamiz de 2mm pero no de 0.25 mm es considerado fracción ligera o mejor dicho fracción macroorgánica, cuya densidad es menor de 1 g/cm³. Este procedimiento se repetirá desde el paso de añadir agua y mezclar, tanta veces como sea necesario, para obtener todo el material particulado flotante. Se recomienda en cada lavada no usar mucha agua para que no se llenen potes y potes plásticos con el agua y la fracción macroorgánica. El suelo que queda en el fondo de la ponchera sedimentado es donde está la fracción pesada orgánica asociada a las partículas minerales, con agua nos ayudamos a transferir a un envase plástico previamente pesado. Si uno lo hace con cuidado es posible vaciar la fracción ligera o macroorgánica en un envase, y el resto del agua con material mineral fino en suspensión, ponerlo en otro envase, este corresponde también a fracción pesada pero fina, pues estarían los limos y las arcillas, sedimentada estaría la fracción de arena, la cual también sería fracción pesada pero gruesa. Cuando el suelo es arenoso es fácil separar las fracciones pesadas finas y gruesas, pero cuando el suelo es arcilloso es más difícil.

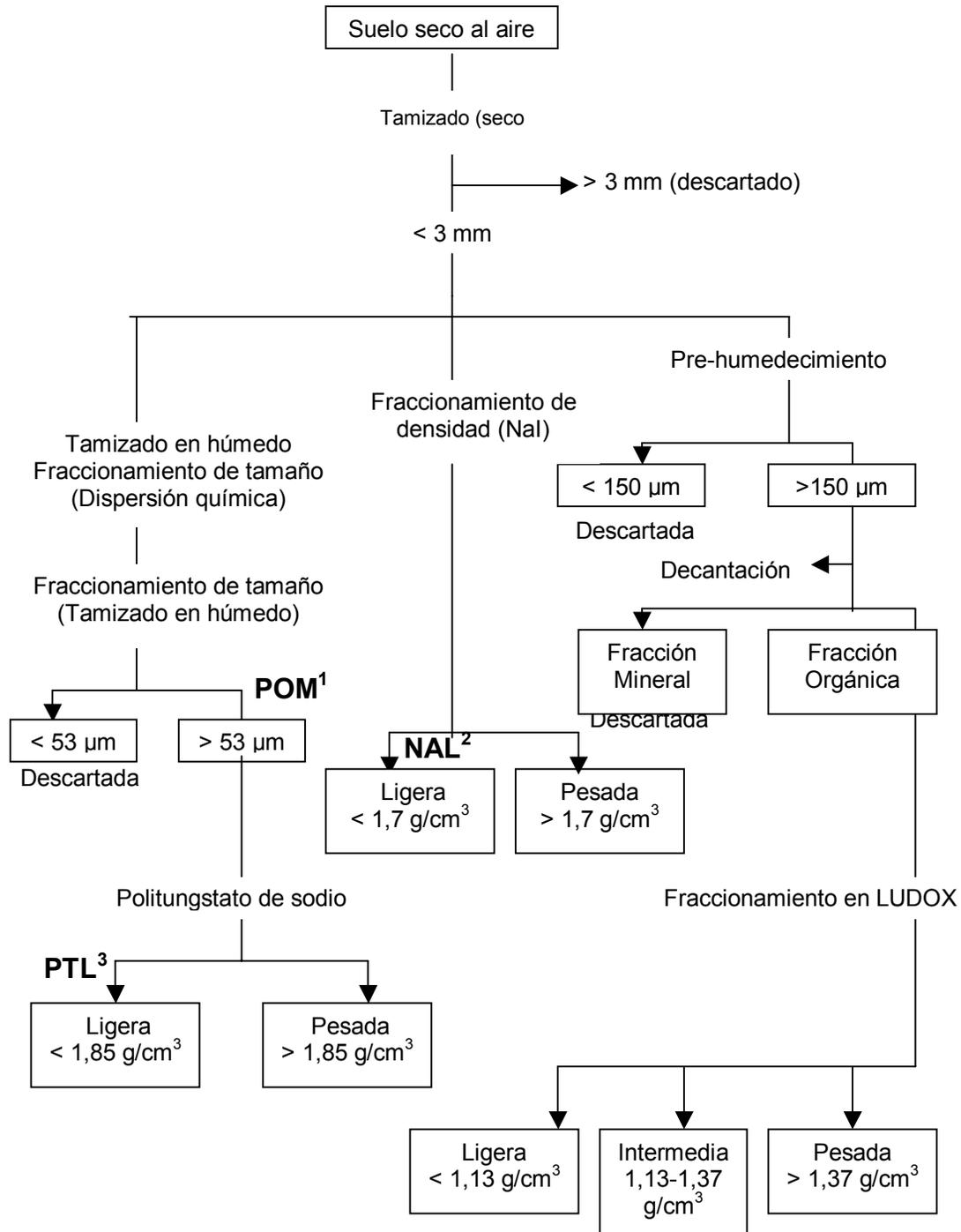
Cada recipiente con la fracción se pone en estufa para evaporar el agua a una temperatura máxima de 60°, para acelerar el proceso puedes con una bombita aspirar el agua, si no dejarla secar por el tiempo necesario en estufa. Cuando se haya evaporado el agua y esté bien seca la fracción orgánica o mineral volver a pesar. Obtener el peso de la fracción por diferencia.



Luego se puede medir el C en las fracciones usando Walkely Black o si se tiene un TOC autoanalizador. La fracción pesada orgánica es el C de la fracción pesada mineral gruesa (fondo ponchera) y mineral fina (la que estaba en suspensión) del suelo. También tienes el C de la Fracción macroorgánica y el porcentaje de fracción macroorgánica como tal.

Se recomienda que el fraccionamiento, dada su objetividad, sea realizado siempre para una misma persona. Con el entrenamiento se logra hacer varias muestras al día.

2. Fraccionamiento de la fracción macroorgánica en pesada, intermedia y ligera usando ludox. Más complicado y largo. (Meijboom et al 1995)
3. Fraccionamiento usando politungstato de sodio y rompimiento de microagregados para obtener la MO libre, la particulada libre atrapada en los macroagregados, pero que está entre los microagregados y la particulada atrapada dentro de los microagregados. También un procedimiento largo. (Sleutel et al 2004).





Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez"
Instituto de Estudios Científicos y Tecnológicos
Centro de Agroecología Tropical
Laboratorio de Biogeoquímica



¹Materia orgánica particulada; ²Fracción ligera en NaI; ³Fracción ligera en politungstato de sodio

Figura 1. Diagrama de flujo del fraccionamiento de la MOS por tamaño, densidad y tamaño-densidad (Tomado de Barrios *et al.*, 1996a).