

CAPÍTULO II

Determinación de diferentes componentes de la materia orgánica y de su estado de descomposición.

DETERMINACIÓN DEL HUMUS SEGÚN GRANDEAU [19, 20].

1.º *Decalcificación de la tierra.* — Se ponen en un vaso de unos 200 c. c 10 gr. de la tierra fina desecada al aire y 10 c. c. de agua, agregando poco a poco ácido clorhídrico concentrado, hasta que cese la efervescencia. Se deja reposar y se decanta el líquido sobre un embudo cuyo fondo esté recubierto, hasta una altura de 4 a 5 centímetros, de amianto previamente calcinado.

Se arrastra todo el residuo sobre el embudo, y se lava con agua destilada hasta que desaparezca del filtrado la reacción ácida.

2.º *Disolución del humus.* — Una vez que ha escurrido bien la materia contenida en el embudo, se reemplaza el vaso que ha recibido el líquido filtrado por una cápsula de 11 cm. de diámetro, de fondo plano, tarada. Se riega la materia con 7 a 8 c. c. de agua amoniacal al 50 por 100, se cubre el embudo con una placa de vidrio y se deja en contacto durante tres a cuatro horas.

El amoníaco disuelve el humus, formando humato amónico. Se lava con agua amoniacal diluída al 5 por 100, hasta que el líquido que filtra sea incoloro.

Para evitar que al final se obtenga un gran volumen del líquido, se utilizará para cada lavado cantidades muy pequeñas de agua amoniacal y se aguardará al agotamiento completo del líquido del embudo antes de hacer un nuevo lavado.

3.º *Separación del humus al estado sólido.* — Se evapora a se-

quedad el líquido amoniacal reunido en la cápsula, en baño maría o en estufa a 90-100° C. Se obtiene un residuo constituido por el humato amónico asociado a cantidades pequeñas de materias minerales.

4.º *Pesada del humus.* — Se pesa este residuo, calcinándolo seguidamente; el humato amónico se destruye, las materias minerales subsisten. Se repesa la cápsula con las cenizas que contiene. Estas cenizas están formadas esencialmente por arcilla deshidratada. Se agrega al peso de este residuo mineral $1/10$ de su valor, y restando esta suma del peso del residuo seco antes de la calcinación, se tiene el del humato amónico correspondiente al humus de la cantidad de tierra tratada, es decir, a 10 gr.

5.º *Cálculo del tanto por ciento de humus.* — La cifra encontrada para los 10 gr. de tierra tomados para la determinación, multiplicada por 100, da el contenido de humus de 1.000 gramos de tierra fina. Este último resultado, multiplicado por el coeficiente de corrección $\frac{1.000 - g}{1.000}$, referente a los elementos gruesos, da el “humus de la tierra” desecada al aire, en humato amónico.

OBSERVACIONES. — 1.ª HILGARD modifica el método, efectuando la descomposición del “humato de calcio” con ácido clorhídrico diluído (1 a 10 por 100), filtrando y lavando el suelo con agua y efectuando la extracción con una disolución al 4 por 100 de hidróxido de amonio; se separa el extracto por filtración, evaporando, desecando a 105° C., pesando y calcinando como se ha dicho anteriormente.

2.ª HUSTON y Mc BRIDE utilizan la disolución de hidróxido de amonio al 4 por 100, y un período de extracción de doce horas.

3.ª SPRINGER opera en la forma siguiente: Se tratan de 5 a 50 gramos del suelo, según el contenido de humus, con 100-200 c. c. de una disolución de HCl al 1 por 100, calentando, decantando y lavando. Se agita el suelo durante dos días, por lo menos, con 400-500 centímetros cúbicos de una disolución de hidróxido de amonio al 4-5 por 100. El extracto se pone en probetas graduadas, dejando sedimentar la arcilla durante varias semanas. Se extrae una parte alícuota del líquido sobrenadante y se agita con un poco de disolución de car-

bonato amónico. Después de la coagulación, parte del líquido se evapora, deseca a 105°, pesa, calcina y pesa nuevamente.

DETERMINACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA POR OXIDACIÓN CON EL AGUA
OXIGENADA (ROBINSON) [2].

Se pesa exactamente, aproximadamente, un gramo del suelo o 0,2 gr. de turba en un vaso de 150 c. c., de forma alta. Se agregan 10 c. c. de agua y 10 c. c. de peróxido de hidrógeno al 30 por 100. Se cubre el vaso y se observa durante unos minutos. En ausencia de una reacción vigorosa, se coloca el vaso sobre un baño de vapor y se hace digerir hasta que no se desprendan burbujas. Si es preciso, se deshacen con una varilla de vidrio las partículas groseras y se ponen las más ligeras en contacto con la disolución. Terminada la reacción, se arrastra la materia residual a un crisol Gooch de vidrio, cuyo fondo está recubierto de una capa gruesa y compacta de amianto, lavando con agua, suficientemente, para arrastrar las materias solubles. Se evapora el filtrado en una cápsula de platino tarada, se incinera y pesa el residuo.

Se deseca el suelo en el crisol de Gooch, durante dieciocho horas, a 110° C., y se pesa. Al mismo tiempo se efectúa una determinación de la humedad en la muestra al estado natural. La diferencia de peso entre la tierra desecada y el residuo desecado, más las cenizas obtenidas de la disolución, es el peso de la materia orgánica. El filtrado resultante del tratamiento con el peróxido debe ser prácticamente claro. Los suelos muy arcillosos dan a veces un filtrado turbio o sucio. Si al refiltrar siguiera saliendo turbio, deben efectuarse ciertas correcciones. Se lleva el filtrado turbio a un volumen determinado, mezclando bien y dejando sedimentar. Se evapora a sequedad la mitad superior (clara) del volumen, se incinera y pesa. El peso del residuo de la mitad inferior menos el residuo de la mitad superior da el peso de la arcilla calcinada. Auméntese éste en un noveno para obtener el peso de la arcilla desecada a 110°, y agréguese éste al peso del residuo del crisol de Gooch.

OBSERVACIÓN.— Este método tiene la ventaja de determinar la materia orgánica directamente, sin el uso de un factor empírico, por lo que se eliminan en gran parte las perturbaciones producidas por la existencia del carbono mineral en sus diferentes formas (hulla, lignito, carbón de madera), que casi duplica la materia orgánica que les correspondería, al determinar la materia orgánica por combustión. Tiene, sin embargo, los inconvenientes de que no se le puede aplicar a las tierras que contienen más del 1 por 100 de caliza o cantidades apreciables de bióxido de manganeso, y de que no es, a veces, fácil la manipulación necesaria para asegurar el contacto de la materia orgánica flotante y el líquido atacante, así como el conseguir filtrados claros. Hay, además, otras materias carbonadas diferentes del carbón mineral, que no son descompuestas por el peróxido de hidrógeno, entre éstas, sustancias análogas a las parafinas. Pero actualmente se discute mucho si debe considerarse a estas sustancias como materia orgánica del suelo.

DETERMINACIÓN DE LAS MATERIAS HÚMICAS POR EL PERMANGANATO
(MÉTODO OFICIAL DE LAS ESTACIONES AGRONÓMICAS FRANCESAS [21, 22].

Se ponen en un Erlenmeyer de 400 c. c., 100 c. c. de la disolución húmica que contenga 0,1 gr. de hidróxido de sodio; por ejemplo: 100 c. c. del líquido limpio de una extracción hecha con este objeto, dispersando con 2,5 c. c. de lejía de sosa de 36° ($d = 1,332$) por litro, y coagulación de los coloides minerales con sulfato potásico (1). Se lleva a la ebullición, agregando 20 c. c. de una disolución n/10 de permanganato potásico; se hace hervir suavemente durante diez minutos, se retira del fuego, se agregan 10 c. c. de ácido sulfúrico al 1/5, y después 20 c. c. de ácido oxálico n/10, valorando con el permanganato el exceso de ácido oxálico que corresponde al permanganato destruido.

Si se emplean más de 12 c. c. de permanganato, hay que comen-

(1) Véase al final una técnica de extracción.

zar de nuevo la operación, tomando una cantidad menor de disolución húmica, completando a 100 con agua.

En estas condiciones, 1 c. c. de permanganato n/10 corresponde, por término medio, a un miligramo de ácido húmico (substancia exenta de materias minerales, desecada a 100° C.); pero como el factor de multiplicación depende en parte del origen de las materias húmicas y también del exceso de permanganato, es preferible establecer una curva empírica en los trabajos de más exactitud, lo que se hace por medio de una serie de determinaciones tipo, en condiciones bien definidas, sobre pesos conocidos (0 a 15 mg.) de ácido húmico extraído del tipo de suelo que se estudia.

La curva de los volúmenes de permanganato reducido en función de las cantidades de ácido húmico, es sensiblemente una recta hasta 12-13 mg. de ácido húmico.

EXTRACCIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.

a) Tratamiento por el ácido clorhídrico. — Se pone en un frasco del agitador de boca ancha de 250 c. c. un poco de tierra, que corresponda a 10 gr. de la desecada a 100° C., agregando 25 c. c. de ácido clorhídrico al 2 por 100, agitando durante dos horas, dejando depositar el tiempo estrictamente preciso para que se clarifique el líquido, y se filtra una parte. Se valora aproximadamente la cantidad de ácido que ha sido neutralizada. Se repite el tratamiento, poniendo en otro frasco la misma cantidad de tierra y 5 c. c. de ácido más de la neutralizada; con esto se consigue que la concentración residual del ácido sea la misma en todos los casos. Transcurridas las dos horas de agitación, se deja el frasco en reposo hasta que el líquido sobrenadante se clarifique. Se elimina éste lo más completamente posible por aspiración.

Se llena el frasco con agua destilada, se agita a mano, se deja reposar y se extrae el líquido claro por aspiración, renovando varias veces esta operación, hasta que el líquido no dé reacción apreciable



de cloruros. Conseguido esto, puede procederse al tratamiento alcalino para conseguir la dispersión.

b) Dispersión. — Se pasa el contenido del frasco a otro de 1.000 centímetros cúbicos, agregando agua destilada hasta unos 400 centímetros cúbicos, aproximadamente, y 2,5 c. c. de lejía de sosa de 36° (30 por 100), agitando durante una hora.

Se recoge el contenido del frasco en una probeta de 1.000 centímetros cúbicos, graduada, agregando agua hasta los 900 c. c., aproximadamente, y unos centímetros cúbicos de una disolución saturada de sulfato potásico, completando hasta el litro con agua destilada. Se agita y se deja en reposo hasta que se deposite la arcilla.

Pueden tomarse 100 c. c. del líquido que sobrenada, para determinar las materias húmicas por el permanganato.

PRUEBA PRELIMINAR PARA DETERMINAR LA NATURALEZA DEL HUMUS (WIEGNER) [23].

Se ponen de 1 a 2 gr. de la muestra del suelo en un tubo de ensayo, agregando de dos a tres veces aquel peso de amoníaco al 2 por 100. Se agita enérgicamente y se filtra, recogiendo el filtrado en otro tubo de ensayo.

Si el filtrado es pardo oscuro, se trata de humus ácido; altamente disperso; si es claro como el agua, el humus es dulce o saturado. Si es amarillento claro, el humus se encuentra en una forma mixta.

Según WIEGNER, esta prueba, aplicada a las turbas permitiría distinguir la naturaleza de éstas, pues es sabido que en las turberas bajas el humus es neutro, mientras que en las altas es ácido.

DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTABILIDAD DEL HUMUS (HOCK) [24].

Según HOCK, para tener un conocimiento perfecto del humus es preciso determinar, además del contenido total, el índice de estabilidad, el estado del humus y, ante todo, las condiciones de su formación. El índice de estabilidad es el cociente de los coeficientes de ex-

tinción en las disoluciones de oxalato sódico y de hidróxido de sodio.

Reactivos: 1. Lejía de sosa al 0,5 por 100. 2. Disolución de oxalato sódico al 1 por 100.

Se agitan con 100 c. c. de cada una de las disoluciones un peso del suelo que contenga 0,2 gr. de materia orgánica, en agitador, durante quince minutos. La relación del líquido al suelo no será menor de 10 : 1. Se pone el conjunto durante varias horas en un baño María a 60° C., y veinticuatro horas más tarde se colorimetra.

DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DEL CARBONO ORGÁNICO Y DEL "GRADO DE OXIDACIÓN" DE LA MATERIA ORGÁNICA (TIURIN) [25].

Se determina el carbono orgánico por combustión húmeda utilizando la mezcla dicromato potásico-ácido sulfúrico (se pesa el CO_2 producido), y en la disolución resultante se valora el dicromato reducido.

Aparato. — Se compone de un matraz de fondo redondo, provisto de un refrigerante de reflujo. El tallo largo de un embudo de separación pasa por el condensador, llegando hasta el fondo del matraz. A través del embudo puede penetrar una corriente de aire privado de CO_2 por medio de un frasco lavador con KOH y dos torres de cal sodada. Los productos de la combustión se succionan a través de un frasco lavador Dreschel, tubos de potasa Geissler, conteniendo H_2SO_4 al 5 por 100, saturado de Ag_2SO_4 ; tubos de potasa que contienen H_2SO_4 concentrado; tubos en U tarados, conteniendo cal sodada y cloruro cálcico, y protegidos por un guardatubo con cloruro cálcico y cal sodada.

Técnica operatoria: a) *Suelos sin carbonatos.* — Se trata una cantidad de la muestra que contenga unos 50 mg. de carbono orgánico con 20 c. c. de H_2SO_4 (1 vol. de ácido concentrado a 1 vol. de agua). Se agita y se une al condensador, haciendo pasar aire privado de CO_2 , durante media hora, a través de la masa. Se unen los tubos de absorción; se introduce por el embudo de separación 1 gr. de Ag_2SO_4 seco

y 100 c. c. de la disolución tipo $K_2Cr_2O_7$ 0,4 N en H_2SO_4 (1 vol. de ácido concentrado a 1 vol. de agua). Se calienta suavemente el matraz, manteniendo cerrada la llave del embudo y abierto el extremo libre del guardatubo. Cuando comienza la ebullición se hace pasar aire a través del aparato durante treinta minutos, por medio de un aspirador, apagando la llama y manteniendo la aspiración otros quince minutos. Se pasa el contenido del matraz y las aguas del lavado de éste, del embudo y del condensador, a un matraz aforado a 500 c. c. Se valoran 50 c. c. con sulfato ferroso amónico 0,1 N, en presencia de difenilamina y 2,5 c. c. de ácido fosfórico. Se calcula el carbono por medio del factor teórico $1 \text{ c. c. N}/10 = 0,3 \text{ mg. C.}$

b) *Suelos con carbonatos.* — Se descomponen los carbonatos por medio de 20 c. c. de ácido sulfúrico al 10 por 100, a la ebullición y presión de 50-60 mm. de Hg. Una vez que se unen los tubos de absorción, se agrega 1 gr. de Ag_2SO_4 , 20 c. c. de H_2SO_4 concentrado y 100 c. c. de la disolución de $K_2Cr_2O_7$ 0,4 N, terminando la determinación como en el caso anterior.

Debe efectuarse un ensayo en blanco sobre 1 gr. de piedra pómez pulverizada.

OBSERVACIÓN. — Si designamos por a el contenido de carbono orgánico por 100, deducido de la combustión húmeda (pesando el CO_2), y por b el deducido del oxígeno necesario para la oxidación, se tiene, según TIURIN:

- 1.º $a < b$ → la mat. orgánica es de la forma $C_n H_{2m} O_{m-y}$
- 2.º $a = b$ → id. id. id. id. $C_n H_{2m} O_m$
- 3.º $a > b$ → id. id. id. id. $C_n H_{2m} O_{m+x}$.

Parece ser que el caso segundo corresponde a un grado normal de oxidación de la materia orgánica, y que los suelos de las regiones húmedas tienen menos oxidada la materia orgánica que los de los áridos (particularmente los alcalinos), existiendo los grados de transición, aunque con algunas excepciones.

DETERMINACIÓN DEL GRADO DE HUMIFICACIÓN (SIBIRSKY) [26].

Reactivo: disolución de hipoclorito. — Se hace pasar cloro a través de una disolución de NaOH $n/1$ ($d = 1,040$) a 5° C. hasta que la densidad llega a $1,050$ (5,5 litros ó 17,4 gr. de cloro en 500 c. c. de NaOH $n/1$). La disolución debe emplearse recién preparada, pero puede ser utilizada hasta un mes, usando envases parafinados cerrados con un tubo de cal sodada y conservándose en la oscuridad a temperatura inferior a 10° C.

Técnica operatoria. — Se trituran 0,5 gr. de suelo en un mortero de ágata, desecando a 100° C., y se tratan en un vaso de 150 c. c. con 20 c. c. de agua y 50 c. c. de la disolución de hipoclorito, teniendo cuidado de que no se originen pérdidas como consecuencia de la formación de espuma. Se calienta la mezcla sobre baño de maría, hirviendo durante media hora, agitando, y se hierve, por último, durante cinco minutos. Se descompone el hipoclorito residual neutralizando con ácido clorhídrico concentrado, el cual se agrega gota a gota, hasta que la efervescencia se detiene y la disolución se aclara. Se pone el vaso en agua caliente hasta que la disolución clarifica completamente, y se pasa el residuo a un crisol de Gooch, lavando con agua caliente que contenga trazas de ácido nítrico, hasta eliminación completa de los cloruros. Se deseca el crisol a 100° C hasta peso constante.

Se concentra el filtrado hasta unos 100 c. c., se neutraliza con amoníaco y se trata con 15-20 c. c. de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 \cdot n/1$, y una vez que se ha sedimentado el precipitado, con $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot n/1$.

Se deja reposar en un sitio caliente y después se filtra, lavando el precipitado con agua caliente que contenga carbonato amónico, y se calcina. El peso del precipitado se agrega al del suelo tratado y se determina la pérdida total por oxidación. Deben determinarse también las sales solubles si el contenido es apreciable.

OBSERVACIÓN. — Los compuestos orgánicos no humificados, tales como la celulosa, hemicelulosas, resinas, ceras, taninos, etc., son inso-

lubles en la disolución de hipoclorito, mientras que la parte humificada con su agua combinada químicamente se determina por la pérdida de peso durante el tratamiento.

Ni los cloratos ni la alcalinidad moderada perturban la aplicación del método.

DETERMINACIÓN DE FRACCIONES DEFINIDAS EN LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO (WAKSMAN Y STEVENS) [27].

Se tratan por el éter, en Soxhlets, durante 12-14 horas, dos muestras de 100 gr. del suelo desecado al aire. Se evapora el extracto etéreo hasta pequeño volumen, traspasándolo a frascos de pesar, desecando hasta peso poco constante, determinándose así las sustancias solubles en el éter (grasas y ceras).

El residuo agotado por el éter se trata por alcohol de 95 por 100, caliente, durante una a dos horas, en baño maría. Las sustancias solubles en alcohol se determinan en el extracto (resinas, taninos y sustancias amargas, alcaloides y glucósidos). El residuo agotado por el alcohol se trata con agua caliente y seguidamente con disolución de ácido clorhídrico al 2 por 100, a 100° C., durante cinco horas; el tratamiento por el agua caliente puede omitirse, tratándose directamente por el ácido después de la extracción por el alcohol. El extracto ácido se filtra y se lava el residuo con agua destilada. Se reúnen los filtrados y se completan con agua destilada hasta formar un volumen determinado.

Se toma una fracción de éste para la determinación del azúcar reductor, otra para la del nitrógeno total, otra para la del nitrógeno amoniacal y una última para valorar la materia orgánica total que ha pasado en solución, calculada a base del contenido de carbono. El azúcar y el amoníaco pueden servir como indicadores del contenido de hemicelulosos y amidas de la materia orgánica del suelo analizado.

Debe tenerse en cuenta que, a consecuencia del tratamiento del suelo por los ácidos clorhídricos o sulfúricos, se obtiene una disolución que es frecuentemente muy rica en hierro y aluminio.

Estos elementos interfieren al determinar el azúcar. Después de neutralización, el hierro y el aluminio se precipitan, debiendo filtrarse y lavar el residuo. El azúcar se determina en el filtrado. Los resultados de ambas muestras deben concordar.

Dos porciones (20 a 50 gr.) del residuo seco procedente del tratamiento por el ácido clorhídrico se colocan en vasos, a los que se agregan de 20 a 30 c. c. de una disolución de ácido sulfúrico al 80 por 100. Se deja actuar el ácido sobre el suelo durante dos horas y media, en frío. Se diluye con 15 volúmenes de agua (300 a 450 c. c.) y se hierve de dos a cinco horas. Este tratamiento tiene por objeto la hidrólisis completa de la celulosa que se encuentra en el suelo y su transformación en glucosa. La determinación del azúcar reductor puede servir como un índice del contenido de celulosa del suelo. El residuo del tratamiento por el ácido sulfúrico se lava a fondo con agua, se deseca, pesa y en él se analiza el carbono total y el nitrógeno. Esta materia orgánica residual está formada por lignina y sus productos de transformación, así como de varios complejos de síntesis microbiana, entre los que se incluyen ciertos compuestos orgánicos nitrogenados.

Si se admite que la distribución del nitrógeno en los complejos orgánicos nitrogenados del suelo es la misma que la existente en las proteínas animales y vegetales, puede calcularse la cantidad de sustancias orgánicas nitrogenadas y el material residual multiplicando el contenido de nitrógeno por el factor 6,25. Restando del carbono total encontrado en el residuo el carbono del complejo nitrogenado, suponiendo que el último contiene 50 por 100 de carbono, y admitiendo que el complejo humus-lignina contiene 62 por 100 de carbono, se puede calcular la cuantía del complejo humus-lignina en el suelo residual y en el suelo original.

Es también interesante subdividir el complejo humus-lignina en ciertos subgrupos, lo que puede realizarse utilizando reactivos tales como el bromuro de acetilo, la solubilización de parte del complejo en una disolución de hidróxido de amonio o por la formación de un

precipitado como resultado de la acidificación del extracto obtenido por el hidróxido sódico en caliente.

MÉTODO SIMPLIFICADO PARA EL ANÁLISIS DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO (WAKSMAN Y STEVENS) [28].

El suelo que se desee analizar se deseca al aire, desmenuza y tamiza. Puede utilizarse para el análisis el material desecado al aire, pero los resultados deben referirse a la tierra desecada a 105° C. Las determinaciones del carbono y del nitrógeno totales se efectúan sobre la tierra desecada al aire. Los resultados del análisis de la materia orgánica se calculan en tantos por ciento de la materia orgánica total del suelo. Ésta se obtiene multiplicando el contenido de carbono orgánico del suelo por 1,72.

Se tratan con éter en Soxhlet, durante diez a dieciséis horas, dos muestras de 200 gr. de la tierra desecada a 105° C.

A esta extracción sigue otra con alcohol en caliente. Puede utilizarse la extracción con una mezcla (1 : 1) de benzol-alcohol, a continuación de la extracción por éter, o en sustitución de las dos (por el éter y el alcohol). El extracto etéreo se evapora hasta pequeño volumen y se pasa a un frasco de pesar, desecando cuidadosamente y pesando. El extracto alcohólico se evapora en cápsulas taradas. Así se obtiene el peso de las sustancias solubles en éter y alcohol (grasas, ceras y resinas). La extracción con la mezcla benzol-alcohol en lugar de las extracciones con éter y alcohol se efectúa de manera similar. Las sustancias extraídas del suelo por benzol-alcohol son casi idénticas a las extraídas por éter y por alcohol.

Se ponen en dos vasos sendas porciones de 50 gr. del residuo desecado, agregando 25 c. c. de una disolución de ácido sulfúrico al 80 por 100, prolongando el contacto durante dos y media horas, en frío. A continuación se agregan 375 c. c. de agua destilada a cada vaso, y el extracto ácido diluido se calienta durante cinco horas en corriente de vapor. Se filtra por papel desecado y tarado, y el residuo se lava perfectamente con agua.

El filtrado y lavados se llevan a un volumen determinado, y en porciones de éste se determina el azúcar reductor, y si se desea, el nitrógeno total y el amoniacal. El azúcar nos da una medida del contenido total de hidratos de carbono de la materia orgánica del suelo.

El residuo de la extracción ácida se deseca y pesa. Para la determinación del carbono total se utilizan dos muestras de 5 gr., una de cada residuo, y para la del nitrógeno total, dos de 10 gr.

El complejo lignina o humus-lignina se calcula del contenido de carbono y nitrógeno de este residuo.

CARACTERIZACIÓN DEL COMPLEJO HUMUS (SPRINGER) [29].

La caracterización del complejo humus del suelo puede hacerse teniendo en cuenta los siguientes valores:

1.º Contenido real de sustancias húmicas (grado de descomposición, ZG).

2.º Número de humificación (HZ).

3.º Relación L/S (relación entre los valores hidróxido de sodio a carbonato sódico).

4.º Número de color.

5.º Contenido de ácidos húmicos pardos y grises, así como de carbón de humus.

6.º Número de oxígeno (SZ), número de permanganato.

7.º Relación C/N.

a) *Determinación del grado de descomposición (grado de humificación) por el método del bromuro de acetilo.*

La determinación del ZG lleva consigo dos determinaciones de carbono:

1.ª Determinación de C_t (total) = carbono total por 100 de materia orgánica (se determina por uno de los métodos conocidos).

2.ª Determinación de C_h (humificado) = carbono por 100 de la

materia orgánica humificada, es decir, de la fracción insoluble en el bromuro de acetilo.

Se deseca la muestra de suelo mineral al aire, y por un tamizado a 2 mm. se le priva de los restos de mayor tamaño de las raíces y de los mayores fragmentos minerales. Lo tamizado se tritura para reducirlo a partículas no mayores de 0,25 mm. aproximadamente.

Los residuos vegetales no descompuestos se pesan aparte, y al hacer el cálculo se los tiene en cuenta.

Los suelos de carácter predominantemente orgánicos se someten a análogos tratamientos, pero desmenuzándolos de modo que se puedan pasar por el tamiz de 0,15 mm. Para el análisis se utiliza la muestra desecada al aire.

Reactivos: 1. Bromuro de acetilo purísimo (SCHERING). 2. Bisulfato potásico al 5 por 100.

Modo de operar. — Para determinar la materia orgánica insoluble en el bromuro de acetilo se toman de 1 a 5 gr. de suelo (si es fuertemente orgánico, 0,5 a 1 gr.) tamizado a 0,25 mm. (no es preciso triturar hasta este límite los suelos cuarcíferos residuales pobres en materia orgánica), colocándolo en un matraz esmerilado de 100 c. c., agregando de 40 a 50 c. c. de bromuro de acetilo. Se le adapta un tubo ascendente de medio metro de altura, que lleva, a unos 10 cm. del extremo del cuello del matraz uno o varios ensanchamientos en forma de bola, agitando de vez en cuando durante dos o tres días (para las muestras pobres en cenizas son necesarios tres días) y manteniendo el matraz a una temperatura de 40 a 50° C. La temperatura no debe salirse fuera de estos límites, para lo que se debe mantener el matraz en un termostato. Para los suelos arcillosos es recomendable una desecación corta a 80° C. para impedir que la reacción sea violenta y el calentamiento excesivo. Se filtra por un crisol Gooch provisto de una capa delgada de fibras de amianto, y se lava varias veces con bromuro de acetilo, hasta que el color del filtrado sólo tenga un color amarillo muy tenue. Después de quitar el líquido del Kitasato, se hace fuertemente el vacío y se deseca el crisol media hora a 80-90° C. Para las sustancias pobres en cenizas es recomen-

dable deshacer cuidadosamente el residuo de la desecación con una varilla de vidrio pequeña o alambre de platino. Después se lava el residuo con una disolución de bisulfato potásico al 5 por 100, hasta que el filtrado apenas dé opalescencia con el nitrato de plata y con amoníaco se note apenas la coloración amarillenta, para lo que se necesitan de 100 a 150 c. c. de disolución. En los suelos que contienen materias húmicas altamente dispersas (humus de podsoles) se utiliza para el lavado éter en lugar de bisulfato, precisándose unos 200 centímetros cúbicos. Como se comprenderá fácilmente, existen seguramente grados de transición. En el residuo se determina el carbono de la misma forma que se hizo para el carbono total. La calcinación directa en el crisol para obtener la materia orgánica insoluble en el bromuro de acetilo por la pérdida de peso es muy inexacta, y sólo puede admitirse para comparar materias húmicas de naturaleza semejante.

El carbonato cálcico perjudica esta reacción, por lo que debe determinársele si la muestra pesada contiene más de 100 mg.

Para esto se agrega a la muestra la cantidad calculada necesaria de ácido clorhídrico de 5 a 10 por 100, utilizando una pipeta graduada en décimas de centímetro cúbico (el volumen total no debe exceder de 20 c. c.). Se calienta hasta la destrucción total de los carbonatos, lavando con poca agua en un crisol de Gooch hasta que se eliminen los cloruros, succionando fuertemente, desecando sin pasar de 100° C. Se extrae la substancia con el asbesto y se ponen en el matracito de ataque.

Si se trata de substancias pobres en cenizas, pueden presentarse dificultades en la filtración, las que pueden obviarse en gran parte utilizando crisoles filtrantes de vidrio 1aG3.

A pesar de todo, si se quiere conseguir un filtrado completamente claro, es preciso succionar con cuidado. Se lava, en este caso, con agua caliente en lugar de hacerlo con bisulfato.

Terminada la succión, es recomendable triturar el residuo con una varilla. A continuación se deseca a 105° C., se pesa y determina el carbono.

El grado de descomposición se calcula por la siguiente fórmula:

$$ZG = \frac{C_h \times 100}{C_t}$$

C_h = Carbono de la materia insoluble en el bromuro de acetilo.

C_t = Carbono de la materia orgánica total.

OBSERVACIÓN. — Puede volverse a emplear el bromuro de acetilo filtrado para todas las manipulaciones, destilando a temperaturas comprendidas entre 71° y 81° C., debiendo efectuarse esta operación suavemente (con llama pequeña).

Para los lavados puede utilizarse el destilado a 90° C.

b) Determinación del número de humificación (HZ).

El índice de humificación da el contenido por ciento de sustancias orgánicas coloreadas (ácidos huminínicos y compuestos intermedios), solubles en los álcalis, tomando como base una preparación tipo (ácido humínico de Marck) y operando por colorimetría. El índice de humificación depende del contenido de humus y de su color.

OBSERVACIÓN. — Se extrae con una lejía de sosa al 0,5 por 100. Utilizando carbonato sódico al 0,5 por 100 se extraen los ácidos húmicos verdaderos más fácilmente solubles. El cociente $100 \times \frac{\text{valor obtenido con el carbonato sódico}}{\text{valor obtenido con la lejía de sosa}}$ da una representación de la parte de ácidos humínicos contenidos en la sustancia humificada total.

Técnica operatoria. Reactivos:

1. Ácido clorhídrico al 5 por 100.
2. Lejía de sosa al 0,5 por 100.

Se comienza tratando el suelo durante media hora con 100 c. c. de ácido clorhídrico al 5 por 100, sosteniendo una temperatura de 70-80° C., en un matraz Erlenmeyer (así se destruye el carbonato cálcico); se lava en un crisol de Gooch, por decantaciones repetidas o centrifugando, hasta que el filtrado no dé reacción de cloruros. El peso de la muestra tamizada a 0,25 mm. debe ser tal que contenga, a lo

más, 0,2 gr. de materia orgánica. Se vuelve a pasar el residuo al matraz con 100 c. c. de lejía de sosa al 0,5 por 100, haciendo hervir durante una hora, colocando encima un embudo y agitando de vez en cuando. Se deja enfriar y se pasa todo el contenido del Erlenmeyer a un matraz aforado a 250 c. c., completando con agua hasta la marca. Se puede, o bien tomar en seguida una parte alícuota y centrifugar, o bien se deja depositar una noche y a continuación se procede a efectuar la medida colorimétrica.

La medida de la intensidad del color se hace comparando con una solución patrón de ácido humínico de Merck. Es provechoso el empleo de una disolución fija de cloruro de hierro que contenga 20 gr. de óxido de hierro en 100 c. c. Es suficiente determinar por una sola vez el valor color del preparado patrón. La disolución corresponde a 0,2 gramos de ácido humínico de Merck por litro.

Preparación de la disolución de hierro.— Se disuelven en un Erlenmeyer 20 gr. de Fe_2O_3 , según BRANDT (MERCK), en 170 c. c. de ácido clorhídrico (1 : 1), calentando el tiempo que sea preciso, y colocando sobre el matraz un embudo, se concentra a pequeña llama hasta 70 c. c. aproximadamente; se completa hasta 100 c. c. y se filtra por un filtro seco.

El coeficiente de extinción k_1 , medido con el filtro de color S57 (F5, amarillo), corresponde a 1 gr. de ácido humínico de Merck en 2,630 litros, deduciéndose por la lectura de k_2 la concentración desconocida:

$$c_2 = \frac{1}{2,63} \cdot k_2; \quad \text{o bien:} \quad c_2 = 0,3802 k_2.$$

Cálculo del número de humificación (HZ).— Diviendiendo el tanto por ciento encontrado para el valor "ácido humínico Merck" por la materia orgánica total (pérdida en la calcinación ó $c \times 1,724$), y multiplicando por 100, se tiene el número de humificación:

$$\text{HZ} = \frac{\text{ácido humínico Merck}}{\text{materia orgánica total}} \times 100.$$

OBSERVACIÓN. — Como norma para la intensidad del color, puede tomarse la de una disolución conveniente para los fotómetros

con lámpara Stufu de Zeiss, calculándose los valores de k para un filtro determinado y tomando en cuenta el peso de la muestra y el volumen de la disolución. Sencilla y conveniente es la determinación de k para 1 gr. de suelo en 100 c. c. de extracto. Se obtiene este valor cuando se divide por 3,8 o se multiplica por 0,263 el tanto por ciento en ácido humínico de Merck.

c) Determinación del número de color (FZ).

Se denomina número de color la intensidad de color del ácido humínico existente expresado en tantos por ciento de "ácido humínico Merck".

Puede calcularse por la siguiente fórmula:

$$FZ = \frac{\text{Porcentaje de ácido humínico, determinando colorimétricamente}}{\text{Porcentaje de ácido humínico, determinando gravimétricamente}}$$

(El ácido humínico determinado gravimétricamente es la materia orgánica insoluble en el bromuro de acetilo).

Los ácidos humínicos grises tienen número de color comprendido entre 300 y 600; en cambio, el de los ácidos humínicos pardos varía de 50 hasta 150.

d) Determinación de los ácidos humínicos pardos y grises, así como del carbón de humus.

El aislamiento de los tipos de ácidos humínicos se efectúa por fraccionamiento del carbono de los ácidos humínicos.

Se tienen las siguientes relaciones:

$$C_B (\text{ácido humínico pardo}) = C_H (\text{carbono humificado} - C_{R_1})$$

$$(R_1 = \text{resultado de la extracción con lejía de sosa al 5 \%})$$

$$C_G (\text{ácido humínico gris}) = C_{R_1} - C_R$$

$$(R_2 = \text{resultado de la extracción con lejía de sosa al 0,5 \%})$$

$$C_K (\text{carbón de humus}) (1) = C_H - C_{R_2}$$

(1) Incluso los ácidos humínicos grises ligados a los silicatos o absorbidos por los geles.

El carbón de humus es una parte de la substancia insoluble en el bromuro de acetilo. Queda como residuo después del tratamiento de los ácidos humínicos por la lejía de sosa y se une a todo la substancia no humificada disuelta por el bromuro de acetilo.

Una porción de suelo que contenga como máximo 0,5 gr. de materia orgánica, y que previamente se había tratado por el ácido clorhídrico, se hace hervir durante una hora con una lejía de sosa al 0,5 por 100, se centrifuga y se lava con agua hasta decoloración; el residuo se arrastra y lava con clorhídrico al 1 por 100 en un crisol de Gooch y finalmente se lava hasta que casi desaparezca la reacción de cloruros; se deseca a 100° C., se desmenuza y se efectúa el tratamiento por el bromuro de acetilo en la forma acostumbrada.

e) Investigación oxidimétrica de los extractos de humus por medio del permanganato potásico (número de oxígeno SZ).

La oxidación se efectúa en medio alcalino.

Reactivos. — 1, Ácido clorhídrico al 5 por 100; 2, lejía de sosa al 5 por 100; 3, permanganato potásico n/10; 4, ácido oxálico n/10.

Preparación del extracto de suelo. — Se toman de 1 a 20 gr. del suelo, según el contenido de materia orgánica (aproximadamente 0,2 gramos de materia orgánica), en un matraz Erlenmeyer, agregando 100 c. c. de ácido clorhídrico al 5 por 100, calentando una media hora a 50-70° C. y se filtra por crisol Gooch, separando primero la mayor parte del ácido clorhídrico por repetidas decantaciones. Si existieran carbonatos se destruyen primero con ácido clorhídrico. El contenido del crisol, en unión de los asbestos, se pasa al matraz con la ayuda de 100 c. c. de lejía de sosa al 5 por 100 y se hace hervir durante media hora exactamente, sobre rejilla de alambre, colocando un pequeño embudo.

Se pasa el extracto, junto con el residuo sólido lo más completamente posible, a un matraz aforado de 250 c. c., completando hasta la marca. Una vez terminada la sedimentación se toma una parte del líquido claro de la parte superior para efectuar la determinación.

Ensayo preliminar. — Se ponen 15 c. c. del extracto en un vaso con 25 c. c. de permanganato potásico n/10 y se agrega agua con una probeta hasta que la solución quede n/50 respecto al permanganato. Se cubre el vaso con un vidrio de reloj y se calienta hasta ebullición, manteniéndola suavemente durante quince minutos exactamente. Se agregan en seguida 20 a 25 cm.³ de ácido oxálico n/10 y 20 c. c. de ácido sulfúrico (1:3), continuando el calentamiento hasta que se disuelva el precipitado pardusco. Luego, se valora el exceso de ácido oxálico con permanganato potásico hasta que el color violeta quede permanente durante diez segundos.

Ensayo definitivo. — Según que el volumen de permanganato n/10 sea mayor o menor de tres veces el gastado, se procederá en el ensayo definitivo a variar el volumen del extracto o el del permanganato para conseguir que el volumen adicionado de éste sea lo más aproximadamente posible tres veces el consumido. Es recomendable no agregar más de 30 c. c. de permanganato n/10, que corresponde a un volumen total de 150 c. c. de la disolución en que se efectúa la oxidación.

No es posible calcular exactamente, partiendo de esta determinación, el contenido de carbono o de ácidos humínicos; sin embargo, puede determinarse si el grado de humificación es más o menos elevado. Para esto se utiliza como tipo de comparación una disolución que contiene 1 gr. de ácido humínico de Merck en un litro, y de ambos valores se deduce el del SZ:

$$SZ = \frac{\text{ácidos humínicos oxidados}}{\text{materia orgánica}}$$

f) Determinación de la relación C/N.

Se determinan los contenidos de carbono y nitrógeno totales y se calcula el valor de su relación.

La mayor parte de las relaciones encontradas para el humus del suelo se aproximan a C : N = 10 : 1; sin embargo, se encuentran divergencias.

ANÁLISIS DE LOS COMPONENTES DEL HUMUS EN LAS TURBAS, ESTIÉRCOLES, ETCÉTERA (WAKSMANS Y STEVENS) [30].

Se extractan con éter sulfúrico en Soxhlets durante dieciséis-veinticuatro horas dos porciones de 5 gr. del material; la parte soluble se determina evaporando el éter y desecando el residuo en frascos de pesar hasta alcanzar el peso constante (*a*). Los residuos se tratan con agua destilada fría durante veinticuatro horas; se evaporan a sequedad partes alícuotas de los extractos, en cápsulas de evaporación taradas, sobre baño maría, desecando, pesando, calcinando y volviendo a pesar, obteniéndose así la materia orgánica soluble en agua y cenizas (*b*); en otras porciones se puede determinar el nitrógeno total, nitratos y azúcares reductores.

Los residuos de (*b*) se tratan con agua caliente durante una hora al vapor del baño maría, y en el extracto se determina la materia orgánica soluble y el nitrógeno (*c*). A este tratamiento siguen dos o tres con 100 c. c. cada uno de alcohol de 95 hirviendo; se combinan las disoluciones filtradas, evaporando en cápsulas taradas hasta peso constante (*d*).

A los residuos de (*d*) se agregan 100-150 c. c. de disolución de ácido clorhídrico al 2 por 100 y se calientan los matraces a 100° en corriente de vapor durante cinco horas. Los extractos calientes (*e*) se filtran por papel previamente desecado y tarado; los residuos se lavan sobre el filtro con agua destilada hasta que desaparezca la reacción ácida. En partes alícuotas del filtrado y lavados combinados se determinan el azúcar reductor total, para lo que se neutraliza previamente con NaOH al 40 por 100. El azúcar reductor se expresa como hemice-lulosa, multiplicando por 0,9.

Los residuos (*f*) que quedan en el papel después del último tratamiento se desecan durante veinticuatro horas a 70° C. y se pesan.

En el caso de turbas de *sphagnum* recientes, el material debe lavarse con alcohol y éter si se quiere conseguir la desecación perfecta.

Dos porciones de 1 gr. de cada uno de los residuos secos se tra-

tan con 10 c. c. de ácido sulfúrico al 80 por 100, en frío, durante dos a tres horas.

Si el material no se mezcla bien con el ácido, debe deshacerse con una varilla de vidrio. Se agregan 150 c. c. de agua destilada y se hierve durante cinco horas bajo condensador de reflujo o en autoclave, durante una hora, a presión de una atmósfera. Se filtran los extractos (*g*) por crisoles de Gooch o por papeles de filtro pequeños sin cenizas, desecados y tarados. Los residuos (*b*) se lavan completamente con agua destilada, se desecan a 70° C. y se pesan. Se calcinan parte de los residuos para determinar las cenizas, y otra parte se utiliza para la determinación del nitrógeno total. El contenido de cenizas y proteína (nitrógeno total $\times 6,25$) se sustrae del peso total del residuo, obteniéndose así el contenido de lignina de 1 gr. del material residual resultante del tratamiento con el ácido clorhídrico diluido. Multiplicando por el peso de estas porciones (*f*) se tiene el contenido de lignina de 5 gr. del material original. Se analiza el azúcar en la disolución, y filtrado (*g*) del tratamiento por el H_2SO_4 , neutralizando previamente una parte alícuota con NaOH al 40 por 100. El azúcar reductor multiplicado por 0,9 da el contenido de celulosa de un gramo de material residual procedente del tratamiento por el HCl. Esta cifra, multiplicada por el peso de los residuos (*f*), da el contenido de celulosa de 5 gr. del material original.

En las determinaciones de lignina que se efectúen sobre residuos vegetales descompuestos, el contenido elevado de proteínas del material tenderá a dar cifras demasiado elevadas para la "lignina". Por esto, en el método detallado debe efectuarse una corrección debida al nitrógeno que contiene la lignina, con el fin de obtener un valor más exacto para ésta.

ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS TURBAS (SOUCI) [31 y 32].

1. *Determinación de la humedad de la turba en estado natural.*

Se deseca en estufa a 105° C., o en el vacío sobre anhídrido fosfórico a 77° C., calculándose por diferencia de peso la humedad y otras sustancias volátiles.

2. *Tratamiento preliminar de las turbas.*

Para las investigaciones que se indican a continuación se tomará una muestra de 2 Kg. aproximadamente, desecándola de modo que se pueda moler fácilmente. En este estado, el contenido de humedad suele ser del 10 al 20 por 100. No es conveniente una desecación absoluta o muy avanzada, porque se perturbarían las pesadas debido a la higroscopicidad elevada. Puede efectuarse la desecación a la temperatura ambiente o mejor en una estufa-ventilador a 40-50° C., disponiendo la turba bien extendida sobre placas de vidrio para aumentar la superficie.

La muestra desecada en esta forma (unos 200 gr.) se pulveriza en un molino, haciendo que toda ella pase por una criba metálica de 0,3 a 0,4 mm. de malla.

Si se trata de turbas ricas en materias minerales que contienen grandes cantidades de sustancias inorgánicas en forma soluble, es conveniente lavarlas con agua y proceder al estudio del extracto.

3. *Determinaciones de la humedad y cenizas de la turba seca.*

Las materias minerales (A) (1) y las sustancias volátiles (W) (2) se determinan en la "turba seca" obtenida en 2 (3) operando en la forma conocida.

(1) El valor de A se calcula en tantos por ciento de la masa seca.

(2) El valor de W se calcula en tantos por ciento de la turba seca.

(3) En lo sucesivo se denominará "turba seca" a la que contiene aún algo de agua, y masa seca, a la absolutamente desecada.

4. *Determinaciones generales.*

Se toman diferentes muestras de la turba seca obtenida en 2 para efectuar las determinaciones que se mencionan a continuación, en la forma conocida:

- a) Determinación del nitrógeno y del fósforo.
- b) Dsecación y preparación de cenizas en las que se hace un análisis cualitativo.
- c) Dsecación y preparación de cenizas en las que se hace un análisis cuantitativo. Puede prescindirse de efectuar estas determinaciones en las turbas pobres en cenizas.

5. *Componentes solubles en la mezcla benzol-alcohol.*

Se pesan 10 gr. de la turba seca (E), sometiéndolos a extracción total en un aparato Soxhlet, con una mezcla a partes iguales de benzol y alcohol absoluto. Se considera terminada la operación cuando el líquido que fluye es incoloro o tiene color amarillento muy claro. Se recoge la disolución que se obtiene en una cápsula de platino, determinando por dsecación el peso del residuo (R) en la forma acostumbrada, así como el peso en gramos de sus cenizas (A_1).

Se dseca a la temperatura ambiente el residuo de la extracción, con lo que desaparece la mayor parte de los disolventes. Después se determina en una porción el contenido por ciento de substancias volátiles (W_1).

El cálculo se efectúa por la siguiente fórmula:

$$B = \frac{100 (R - A_1)}{E - \frac{E W}{100}};$$

siendo B el contenido de compuestos orgánicos solubles en benzol-alcohol por 100 partes de masa seca (extracto bituminoso y extracto protobituminoso).

6. Componentes solubles en agua caliente.

Se ponen en un matraz esférico de 1.000 c. c., aproximadamente 4 gr. (R_1) del residuo obtenido en 5, calentando a ebullición con refrigerante de reflujo durante tres horas, con 300 c. c. de agua. Con este proceso pasan en disolución las pectinas, así como la mayor parte de la pequeña cantidad de materias minerales que pueden existir; las albúminas solubles y los hidratos de carbono solubles (incluso almidón). Se filtra por un vasito filtrante (1) tarado y se lava ligeramente con agua caliente.

Se determina el contenido de cenizas (A_2) (2) en una parte del filtrado por evaporación e incineración. En otras porciones del filtrado se determinan los azúcares reductores y los compuestos nitrogenados (3), operando en la forma conocida.

El residuo se deseca hasta peso constante (R_2), traspasando la mayor cantidad posible a un pesafiltros de boca ancha, tarado.

El contenido por 100 de la masa seca de sustancias orgánicas solubles en agua caliente (P), es decir, la pectina, diferentes hidratos de carbono solubles y albúmina, se calcula por la siguiente fórmula:

$$P = \frac{100 [R_1 - (R_2 + A_2)] - R_1 W_1}{M}; \quad [3]$$

M es el peso en gramos de masa seca que correspondería a la turba original, constante para las determinaciones siguientes:

$$M = \frac{100 R_1 - W_1 R_1}{100 - \left[B + \frac{100 A_1}{E - \frac{E W}{100}} \right]}. \quad [2]$$

(1) Son muy apropiados los vasitos filtrantes de Schott und Gen, Jena, 1 G-3.

(2) El valor A_2 se calcula en gramos, refiriéndolo al total del filtrado.

(3) Los compuestos nitrogenados se calculan como albúmina, multiplicando, como es costumbre, el nitrógeno encontrado, por 6,25.

7. Componentes hidrolizables por el ácido clorhídrico diluido.

Se pone en un matraz esférico de un litro el residuo desecado R_2 obtenido en 6, triturado, tratándolo durante tres horas con 300 c. c. de una disolución al 2 por 100 de ácido clorhídrico a la ebullición bajo condensador de reflujo.

Por este tratamiento se consigue producir la hidrólisis de las hemicelulosas. Además, pasan en disolución, generalmente en pequeña cantidad, celulosa, así como albúmina, materias minerales solubles en los ácidos y posiblemente un complejo de ácidos urónicos por degradación de la pectina. Se filtra por un filtro de vidrio (1), lavando con agua caliente hasta la desaparición del ácido, y se deseca, primeramente, una noche en un desecador con vacío que contenga sosa sólida, y después en una estufa de desecación hasta peso constante (R_3). Se emplea una parte del residuo (unos 0,6 gr.) (2) para la determinación de las cenizas (A_3) (3).

En diferentes porciones del filtrado se determina el contenido de materias nitrogenadas (4) y de azúcares reductores. Expresados éstos en glucosa, se obtiene el contenido de hemicelulosas multiplicando por el factor 0,9.

El cálculo se efectúa por la siguiente fórmula:

$$h = 100 \times \left[\frac{R_2 - R_3 + A_2 + A_3}{M} + \frac{A_1}{E - \frac{E \cdot W}{100}} \right] - A; \quad [4]$$

h = contenido en 100 partes de masa seca de compuestos orgánicos hidrolizables por el ácido clorhídrico, existentes en el residuo del tratamiento por el agua caliente (hemicelulosas y albúmina con vestigios de celulosa).

(1) Son muy apropiados los vasitos filtrantes Schott und Gen. Jena, 1 G-3.

(2) Las pesadas de la turba seca son muy difíciles de efectuar, debido a su elevada higroscopicidad.

(3) El valor de A_3 se calcula en gramos, refiriéndole al residuo R_3 .

(4) Los compuestos nitrogenados se calculan como albúmina, multiplicando, como es costumbre, el nitrógeno encontrado por 6,25.

8. Componentes hidrolizables con el ácido sulfúrico concentrado.

Se pone en un pesafiltros lo que quedó (E_1) del residuo R_3 obtenido en la operación 7, tratándolo con 20 c. c. de ácido sulfúrico al 72-80 por 100 en peso, removiendo repetidas veces durante dos horas y media a la temperatura ambiente de 20-25° C. Se diluye la mezcla con 300 c. c. de agua en un matraz esférico de un litro, hirviendo cinco horas con refrigerante de reflujo. Por este tratamiento pasan en disolución diferentes componentes, principalmente la celulosa, que se descompone por hidrólisis. El residuo se recoge en un crisol filtrante del mismo tipo de los indicados anteriormente, lavando a fondo con agua caliente, desecando hasta peso constante (R_4) y determinando finalmente su contenido de cenizas (A_4) (1).

Empleando ácido sulfúrico al 80 por 100 puede determinarse en el filtrado y lavados el azúcar reductor y los compuestos nitrogenados.

Evaluada la glucosa, se reduce a celulosa multiplicando por 0,9. Multiplicando el nitrógeno por 6,25, se expresa en albúmina todos los compuestos nitrogenados.

Sustrayendo de la pérdida de peso ocasionada por el tratamiento con el ácido sulfúrico los valores últimamente calculados, se obtendrá, finalmente, los componentes lignina y ácidos humínicos solubilizados.

El cálculo se efectúa por la siguiente fórmula:

$$Z = \frac{100 \cdot R_3 \cdot \left[E_1 - R_4 - \frac{A_3 \cdot E_1}{R_3} + A_4 \right]}{M \cdot E_1}$$

Z = tanto por ciento de compuestos orgánicos hidrolizables por el ácido sulfúrico de 72-80 por 100 en el residuo del tratamiento precedente, referido a la masa seca (*celulosa* en unión de albúmina y pequeñas cantidades de ácidos humínicos y complejos de lignina).

(1) El valor A_4 se calcula en gramos, debiendo referirse al residuo total R_4 .

9. *Componentes solubles en los álcalis e insolubles en el bromuro de acetilo.*

Si la turba es rica en cenizas, deben descomponerse los humatos alcalinotérreos y los carbonatos, lo que se consigue de la forma siguiente: Se ponen de 1 a 1,5 gr. de la turba seca (E_2) con 100 c. c. de ácido clorhídrico al 2 por 100, en frío, agitando a máquina durante cuatro a seis horas, filtrando después por un crisol de porcelana filtrante "Berlín A_2 " o un vasito de vidrio filtrante de Jena 1 G-3. Se lava con agua fría y se deja desecar a la temperatura ambiente.

El residuo o el peso E_2 , si se trata de turbas pobres en cenizas, se pasa a un vaso de 150 c. c. o frasco del agitador, agregando 80-100 centímetros cúbicos de lejía de sosa al 0,5 por 100, agitando durante una o dos horas. Por este procedimiento pasan en disolución los ácidos humínicos solubles en los álcalis, así como otras sustancias vegetales, tales como la lignina, etc., unidas a productos de transformación (ácido lignínico, ácido humolignínico). Se separa la disolución del residuo centrifugado a 4.000 revoluciones por minuto, durante quince minutos, pasando la disolución a un vaso y agregando ácido clorhídrico diluido hasta reacción ligeramente ácida. Se pasa nuevamente el residuo al frasco del agitador, repitiéndose las extracciones por la lejía de sosa al 0,5 por 100 y las neutralizaciones en el vaso hasta que la disolución extraída sólo tenga un color ligeramente amarillento.

Por la neutralización indicada se precipitan las sustancias que habían pasado en disolución; no obstante, debe agregarse al extracto ácido, suficiente ácido clorhídrico para precipitar el ácido humínico, dejando depositar y filtrando finalmente por un vasito filtrante de vidrio Jena 1 G-3, tarado. Si se quiere emplear el vacío para la filtración, debe ser muy débil, deteniendo frecuentemente la acción de la trompa con una llave, pues si la succión es muy fuerte o se obstruyen rápidamente los poros del filtro o el ácido humínico floculado, pasa en el filtrado.

Se lava con ácido clorhídrico al 0,01 por 100, quitando la mayor parte de la humedad desecando en el vacío sobre hidróxido de sodio sólido, pesando el conjunto (P). A continuación se tritura muy finamente el residuo en un mortero de ágata y se procede al tratamiento por el bromuro de acetilo de una parte de aquél como se indica a continuación:

Tratamiento por el bromuro de acetilo. — El tratamiento de la substancia por el bromuro de acetilo se efectúa muy bien en un matraz de acetilación esmerilado (normas D. A. B. 6) o en un matraz corriente con cierre esmerilado, provisto de un tubo ascendente. Para facilitar la separación de la mezcla se puede emplear la centrifugación, y en este caso es cómodo utilizar directamente como recipiente para la reacción un tubo de centrifugar de 50 c. c. de capacidad, al que se le adaptará un tubo ascendente con cierre esmerilado. En el mismo tubo se efectúan los lavados que más adelante se indican.

Para 0,2 gr. de turba se emplearán de 15 a 20 c. c. de bromuro de acetilo. Se calienta la mezcla durante tres-cuatro días a una temperatura de 40-50° C., utilizando un termostato de agua. Debe evitarse que pueda llegar el agua de condensación al matraz, lo que se consigue aplicando al cierre, por fuera, una capa muy delgada de vaselina. Ésta se quita con un paño antes de comenzar la filtración.

Para efectuar la separación de la parte no atacada puede centrifugarse o filtrarse. En este último caso es conveniente emplear un crisol filtrante de porcelana "Berlín A₂"; pero en este caso no debe succionarse muy fuerte, para evitar que se obstruyan los poros del filtro. Se lava una vez con 1-2 c. c. de bromuro de acetilo puro; después, con ácido acético y éter, y finalmente, con 300 a 400 c. c. de agua caliente; se dará el lavado por terminado cuando el filtrado no precipite por el nitrato de plata (1). Se deseca el residuo lavando por filtración con éter, y finalmente en estufa a 105° C., hasta peso constan-

(1) Si al lavar con agua caliente sale el filtrado de color amarillo, se empleará agua fría.

te (R_5) (1), y a continuación se calcina, determinándose las cenizas (A_5) (1).

El cálculo se hace en la siguiente forma:

$$H = \frac{(R_5 - A_5) \cdot 93}{E_2 - \frac{E_2 W}{100}} \quad (2);$$

siendo H el contenido de compuestos orgánicos solubles en los álcalis e insolubles en el bromuro de acetilo (ácidos húmicos) en 100 gr. de materia seca.

10. *Compuestos insolubles en los álcalis y en el bromuro de acetilo.*

Se tratan de 0,15 a 0,25 gr. (E_3) de turba seca con ácido clorhídrico diluído y con el bromuro de acetilo, como se ha dicho en el apartado 9. Por estos tratamientos pasan en disolución la lignina y compuestos análogos, celulosa, albúmina y componentes de la turba fácilmente hidrolizables, permaneciendo insoluble el humus (humina) y ácido húmico. Se pesa el residuo (R_6) y se determinan las cenizas (A_6) (3).

El cálculo se efectúa en la forma siguiente, teniendo en cuenta la corrección debida al bromo remanente:

$$H_1 = \frac{(R_6 - A_6) \cdot 93}{E_3 - \frac{E_3 \cdot W}{100}} - H;$$

siendo el H_1 el contenido de componentes orgánicos insolubles en los álcalis y en el bromuro de acetilo ("Humina" unida a ácidos húmicos, esporopolenina, cutina, fitomelanina, insolubles en los álcalis) en 100 gramos de masa seca.

(1) R_5 y A_5 están referidas al peso P.

(2) Se supone que el residuo insoluble en el bromuro de acetilo retiene, por término medio, un 7 por 100 de bromo.

(3) El valor A_6 se refiere al R_6 total del residuo.

11. *Componentes no hidrolizables por el ácido sulfúrico concentrado y solubles en el bromuro de acetilo.*

Sustrayendo la parte de humus encontrada en 10 del residuo insoluble en el ácido sulfúrico concentrado, se obtendrá el contenido de lignina y compuestos análogos en la muestra de turba.

Este cálculo se funda en suponer que ni el ácido humínico ni la lignina se hidrolizan en cantidad apreciable por el ácido sulfúrico. Sin embargo, debe de tenerse en cuenta que, según se ha visto en 8, se producen ligeras solubilizaciones de aquéllos.

El cálculo se efectúa por la siguiente fórmula:

$$L = \frac{100 \cdot R_3 (R_4 - A_4)}{E_1 \cdot M} - (H + H_1);$$

siendo L el contenido de compuestos orgánicos no hidrolizables por el ácido sulfúrico al 72-80 por 100, y solubles en el bromuro de acetilo ("lignina" y compuestos análogos, ácido lignínico, ácido humolignínico, ácido himatomelánico en 100 gramos de masa seca).

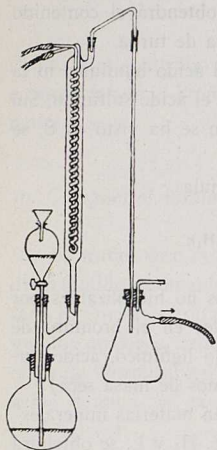
OBSERVACIÓN. — Si en las "turbas pobres en materias minerales" se suman los valores obtenidos para B, P, H, Z, H₁ y L, se obtendrá el contenido total de materias orgánicas de 100 partes de masa seca que debe coincidir con el valor encontrado por la determinación directa de las cenizas.

En las turbas muy ricas en materias minerales, la determinación puede venir alterada grandemente por las modificaciones que sufren éstas durante la calcinación, acentuándose esta perturbación si existe arcilla, debido al agua de constitución.

PREPARACIÓN DEL BROMURO DE ACETILO (SOUCI).

La reacción tiene lugar en un matraz esférico de un litro de capacidad, de cuello estrecho, provisto de un dispositivo para adaptar un refrigerante de reflujo Dimroth o un refrigerante Liebig y un em-

budo de bromo de 250 c. c. El aparato lleva tapones de goma, los que se endurecen con el tiempo por la acción de los vapores del bromuro de acetilo (no se pueden emplear de corcho porque se atacan muy fuertemente). El cuello del embudo debe llegar hasta el fondo del matraz. Para efectuar la absorción del ácido bromhídrico y de los vapores de bromuro de acetilo que se producen, se une el refrigerante a un Kitasato en comunicación con la atmósfera, extrayendo los vapores con una trompa.



Aparato para la preparación del bromuro de acetilo (Souci):

Se ponen en el matraz 65 gr. de fósforo rojo y 180 gr. de ácido acético puro, dejando caer lentamente sobre la mezcla, por medio del embudo, 150 c. c. de bromo, esperando para cada nueva adición a la desaparición de los vapores de bromo sobre el líquido. La duración total de la reacción es de unas tres horas y media. Se destila la mezcla sobre llama libre, utilizando un dispositivo con refrigerante ascendente y recogiendo en un recipiente enfriado las porciones que pasan entre 70° y 85° C. El destilado es suficientemente puro para el empleo a que se le destina, no necesitando nuevo fraccionamiento. De esta forma se obtiene aproximadamente 360 gr. de bromuro de acetilo (punto de ebullición de la fracción más volátil = 74° a 76° C., que debe conservarse en un frasco con tapón de vidrio y en sitio oscuro.

La reacción tiene lugar en la siguiente forma:

1. $P_4 + 6Br \rightarrow 4PBr_3$.
2. $3CH_3 - COOH + PBr_3 \rightarrow 3CH_3 \cdot CO \cdot Br + H_3PO_3$.
3. $PBr_3 + H_3PO_3 \rightarrow P_2O_3 + 3HBr$.

En el empleo ha de tenerse en cuenta que para asegurar la solubilización del material estudiado, debe existir un gran exceso de bro-

muro de acetilo; por ejemplo: para 0,1 gr. de preparados de ácidos humínicos ó 0,2 gr. de turba se emplean de 15-20 c. c. de bromuro de acetilo.

OBSERVACIÓN. — Según WEYGAND, se ponen 150 gr. de ácido acético con 10 gr. de fósforo rojo, agregando gota a gota y lentamente 400 gr. de bromo, calentando hasta ebullición durante una hora, con refrigerante de reflujo, destilando finalmente el bromuro de acetilo formado, recogiendo el destilado a 76°.

APÉNDICES

I

DETERMINACIÓN DE LOS AZÚCARES REDUCTORES (BERTRAND) [33].

Se emplea una disolución alcalina de óxido cúprico CuO , un exceso de la cual se hace hervir con un volumen conocido de la disolución de azúcar que se desea analizar.

El óxido cuproso (Cu_2O) precipitado se disuelve en una disolución de sulfato férrico, y en éste se valora por el permanganato potásico la sal ferrosa originada según la siguiente reacción:



De esta ecuación se deduce fácilmente la cantidad de cobre que ha sido precipitada por el azúcar.

DISOLUCIONES NECESARIAS:

A) Licor cúprico.

Sulfato de cobre puro.....	40 gr.
Agua destilada hasta.....	1.000 c. c.

B) Licor sódico.

Sal de Seignette.....	200 gr.
Hidróxido de sodio en barras.....	150 "
Agua destilada hasta.....	1.000 c. c.