

DISTRIBUCIÓN DE FRACCIONES DE TAMAÑOS MOLECULARES DE ÁCIDOS HÚMICOS Y FÚLVICOS EXTRAÍDOS DE ANDISOLES DE COLOMBIA

MOLECULAR SIZE DISTRIBUTIONS OF HUMIC AND FULVIC ACIDS EXTRACTED FROM COLOMBIAN ANDISOLES

*Armando Herrera**, *Adela Correa*** y *Amanda Lozano de Yunda**

Recibido: 01/03/03 – Aceptado: 30/06/03

RESUMEN

Se realizó el análisis elemental y la distribución de tamaños moleculares de los ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF) de los horizontes Ap y AB de dos perfiles de suelos clasificados como Typic Fulvudand (Marsella) y Acrudoxic Melanudand (Combia), procedentes del municipio de Marsella, departamento de Risaralda, Colombia. Con tal fin se aplicó la técnica de cromatografía de exclusión por tamaño con Sephadex (G-25, G-75 y G-100) con la ultracentrifugación con gradiente de densidad de sacarosa.

Tanto los AF como los AH presentan mayor polidispersidad en el horizonte AB que en el Ap del suelo Marsella, donde los ácidos húmicos presentan me-

nor tamaño molecular. En Ap, la mayor polidispersidad se obtuvo en los ácidos húmicos en el intervalo de peso molecular > 150.000 Daltons. Aunque los AH del horizonte Ap presentan menor E_4/E_6 , y mayor tamaño molecular, son menos polidispersos que los AH del horizonte AB, lo que indica que en la distribución de fracciones moleculares influyen otros factores, diferentes al tamaño, como son las fuerzas de interacción inter e intramolecular. Los perfiles de polidispersidad por cromatografía de exclusión ponen en evidencia las diferencias entre los dos suelos en estudio acordes con su clasificación a nivel de gran grupo.

Palabras clave: andisol, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, polidispersidad, SEC, UGD.

* Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Correo electrónico: alozano@unal.edu.co

** Laboratorio de Suelos, Subdirección de Agrológica, Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá. Correo electrónico: acorreas_7@hotmail.com

ABSTRACT

It was determined the chemical analysis and the molecular-mass distribution of the humic acids (HA) and fulvic acids (FA) in the horizons Ap and AB of two soils from Marsella (Department of Risaralda, Colombia) classified as Fulvudand (Marsella) and Melanudand (Combia). Size exclusion chromatography (Sephadex G-25, G-75, and G-100) was combined with ultra centrifugation with density gradient of sucrose.

The polydispersity of FA and HA in the horizons AB were higher than in the horizon Ap of Marsella soil. In the horizon Ap, humic acids with molecular weight $> 150,000$ had the highest polydispersity. Humic acids in this horizon had lower ratio of E_4/E_6 , and higher molecular weight than in the horizon AB. This indicates that factors like forces of interaction inter and intramolecular influence on the distribution of molecular-mass fractions. The polydispersity profiles of the two soils are in accordance with their classification in the taxonomic level of great group.

Key words: Andisol, Humic Acids, Fulvic Acids, Polidispersity, SEC, UGD.

INTRODUCCIÓN

Los suelos derivados de materiales volcánicos, especialmente de piroclastos finos clasificados como Andisoles, ocupan gran parte de la región montañosa de Colombia y constituyen aproximadamente el 11,6% de la extensión geográfica nacional. Estos suelos son de gran importancia económica ya que soportan parte del desarrollo agrícola, en especial en

áreas dedicadas al cultivo de café, frutales y ganadería.

Los compuestos minerales amorfos procedentes de la meteorización de los materiales piroclásticos ejercen una acción importante sobre la evolución de la materia orgánica en estos suelos al protegerla contra la biodegradación microbiana, de tal manera que se acumula en cantidades importantes en los horizontes superficiales. Sin embargo, en algunos ambientes edáficos pueden ocurrir translocaciones de los complejos humus-cación, lo cual es determinado por las características del componente mineral y de las sustancias húmicas. Por otra parte, en suelos ácidos ($\text{pH} < 5$) la materia orgánica impide la formación de alófana y da lugar a la formación de Andisoles no alofánicos(1). Dado que la dinámica de la materia orgánica orienta notablemente la génesis de los Andisoles, es importante conocer las características que permiten estabilizar los complejos humus-alofana o, por el contrario, facilitar los procesos de mineralización y de migración de las sustancias húmicas.

En Colombia se han hecho algunos estudios de extracción y caracterización preliminar de la fracción húmica de algunos Andisoles (2-7) en los cuales se ha realizado la separación de fracciones húmicas de acuerdo con su solubilidad, y se ha determinado la relación de los extractantes con las fracciones húmicas y con los cationes solubilizados.

Dada la complejidad de la estructura de las sustancias húmicas, actualmente se emplean numerosas técnicas para caracterizarlas tales como cromatografía, pirólisis, degradaciones oxidativas y estu-

dio de propiedades coligativas, entre otros. También se ha dado relevancia a la determinación de intervalos de pesos moleculares por medio de cromatografía de exclusión por tamaño y en un segundo plano –por ser más dispendiosas, no menos útiles– a técnicas de ultracentrifugación (equilibrio y velocidad de sedimentación, y gradiente de densidad). La ultracentrifugación es una técnica que aporta información acerca de los pesos moleculares, tamaños y formas de macromoléculas; en particular, con una ultracentrífuga preparativa es posible separar macromoléculas mediante un gradiente de densidad que permite su distribución de acuerdo con su coeficiente de sedimentación. Dichas técnicas pueden ser acopladas para complementar los estudios; así, con la cromatografía de exclusión molecular se logra disminuir la polidispersidad de las fracciones húmicas limitándolas a intervalos de pesos moleculares. Las fracciones que presentan mayor absorbancia en la región ultravioleta-visible pueden ser separadas posteriormente por gradientes de sedimentación, obteniéndose un grado de polidispersidad aún menor.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar los ácidos húmicos y fúlvicos de los horizontes A y AB de dos perfiles de suelos clasificados como Fulvudand y Melanudans, empleando técnicas acopladas de cromatografía de exclusión por tamaño con Sephadex G-25, G-75 y G-100 y ultracentrifugación con gradiente de densidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en dos perfiles de suelo: 1) Combia, Typic Melanudans medial amórfico, isotérmico, bajo culti-

vo de caña de azúcar *Saccharum officinalis* 2) Marsella, Acrudoxic Fulvudand medial, amórfico, isotérmico, bajo cultivo de café *Coffea arabica* a plena exposición; ambos ubicados en paisaje montañoso (1250 msnm de altitud) en el municipio de Marsella, departamento de Risaralda, Colombia. En el suelo Combia se tomó muestra de los horizontes Ap (00-30 cm) y AB (30-50 cm), y del suelo Marsella los horizontes Ap (00-50cm) y AB (50-70 cm).

Extracción

En la fracción menor de 50 micras, considerada como materia orgánica humificada (8) se realizaron extracciones sucesivas de las sustancias húmicas con $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,05 M, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,025 M y NaOH 0,1M. En cada extracto se precipitaron los ácidos húmicos a pH 2 con H_2SO_4 , los ácidos fúlvicos permanecen solubles.

Purificación

Los ácidos húmicos AH extraídos de la fracción <50mm se dializaron a través de membranas de 8000 Daltons, hasta pH y conductividad constantes y libre de boratos, sulfatos y fosfatos. Las fracciones dializadas se pasaron por resinas de intercambio catiónico Rexyn H^+ , hasta eliminación de sodio, y se liofilizaron para su posterior caracterización.

La purificación de los ácidos fúlvicos AF se realizó por diálisis con membranas de poro <3000 Daltons y por adsorción sobre resinas poliméricas del tipo amberlita XAD-2 y XAD-16. Todos los extrac-

tos se liofilizaron para su conservación y caracterización.

Análisis elemental

Los contenidos de carbono, hidrógeno y nitrógeno, de AH y AF purificados, se determinaron en el analizador elemental CAC III Instalab serie 600.

Relación E_4 / E_6 (9-10): relación entre la densidad óptica a $\lambda = 465$ nm y a $\lambda = 665$ nm, de 2 mg de cada fracción húmica (AH y AF) en 10 ml de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) 0,05 M.

Tamaños moleculares

Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)

Para el desarrollo de la cromatografía de exclusión por tamaño (11-13) se emplearon geles semirrígidos; Sephadex G-25, G-75 y G-100, empacados en columnas de 150 ml; como eluyente se empleó agua destilada libre de CO_2 , con flujo de 1,5 ml/min; se aplicaron 0,270 mg de C/ml de NaOH 0,1M por columna. Se colectaron fracciones cada 3 ml y se midió la absorbancia a $\lambda = 460$ nm.

De las muestras de AH y AF obtenidas con los diferentes extractantes se obtuvieron fracciones > 150.000, 80.000 a 150.000, 5.000 a 80.000 Daltons.

Ultracentrifugación por gradiente de densidad (UGD)

Se colectaron las fracciones húmicas de mayor absorbancia previamente separa-

das por SEC en proceso continuo (G-25, 75 y 100), con el fin de separarlas por medio de ultracentrifugación preparativa mediante gradiente de densidad (14-17). Después de ensayos previos se establecieron los parámetros de operación apropiados en cuanto a gradiente de concentración y a velocidad de sedimentación. La mejor separación se obtuvo en el gradiente de 5 - 20% de sacarosa; la velocidad de centrifugación, 35.000 rpm, se eligió de acuerdo con los estudios realizados por otros autores (19-20), y con la máxima permitida por el rotor disponible. El volumen de la muestra aplicada fue de 2 ml a una temperatura de 4 °C y tiempo de centrifugación de dos horas. Finalmente, cada gradiente fue leído por UV -VIS. Para este fin se colectaron 20 fracciones de 4 ml a las cuales se les determinó su absorbancia (A), a 460 nm.

Al representar en un sistema de coordenadas la absorbancia frente al volumen eluido, se obtuvieron los perfiles de polidispersidad de cada fracción de tal forma que cada región del gradiente corresponde aproximadamente a 20 ml, es decir, que la primera corresponde a la concentración de sacarosa del 5%, la siguiente a la del 10%, y así sucesivamente hasta 80 ml.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis elemental

En la Tabla 1 se presenta el análisis elemental de las fracciones purificadas; los AF presentan porcentajes más altos de O, N y H, pero menores porcentajes de C que los encontrados en los AH, lo que

Tabla 1. Contenido de AH/AF, relación E_d/E_e y análisis elemental de los AH y AF extraídos secuencialmente con soluciones de tetraborato de sodio (EX1), pirofosfato de sodio (EX2) e hidróxido de sodio (EX2) de los suelos Combia y Marsella

Suelo Horizonte	Ext	CH/ CF	Ácidos húmicos						Ácidos fúlvicos					
			E_d/E_e	%C	%H	%N	%O	E_d/E_e	%C	%H	%N	%O		
Combia Ap	EX1	2,00	1.43	56,63	3,46	3,49	36,42	6.58	40,41	4,76	4,51	50,2		
	EX2	1,52	1.06	57,82	3,51	3,59	35,08	6.49	41,26	5,62	5,30	47,82		
	EX3	1,36	1.29	52,15	4,21	5,12	38,52	6.27	43,51	6,95	5,92	43,62		
Melanudand AB	EX1	2,25	2.16	55,35	3,16	3,35	38,14	6.79	37,56	3,89	3,21	55,34		
	EX2	1,67	1.72	55,76	3,29	3,51	37,44	6.58	39,18	4,43	3,72	52,67		
	EX3	1,84	2.03	51,89	3,96	4,26	38,98	6.53	41,21	5,38	4,35	49,06		
Marsella Ap	EX1	0,60	1.65	53,26	3,34	3,41	39,99	5.91	38,52	4,86	4,42	52,20		
	EX2	0,45	1.35	56,23	3,42	3,61	36,74	5.21	40,11	5,69	5,21	48,99		
	EX3	0,51	1.37	50,21	4,11	4,52	41,16	4.85	42,26	6,25	5,84	45,65		
Fulvudand AB	EX1	0,39	2.67	54,16	3,09	3,36	39,39	6.33	36,21	3,64	3,35	56,80		
	EX2	0,25	2.29	54,95	3,30	3,51	38,24	5.91	38,11	4,21	3,92	53,76		
	EX3	0,21	2.36	48,66	3,91	4,26	43,17	5.79	40,37	5,02	4,36	50,25		

CH/CF: carbono de ácidos húmicos/carbono de ácidos fúlvicos.

está asociado con la presencia de grupos funcionales oxigenados lo cual les confiere una mayor acidez y, por tanto, mayor reactividad.

De otro lado, al comparar el análisis elemental de cada agente extractante se observa que los porcentajes de C en los AH se encuentran en un intervalo de 48,66 - 57,82, obteniéndose los valores más altos al emplear extractantes suaves como el tetraborato (EX1) y el pirofosfato de sodio (EX2), lo que comprueba que el uso de estos extractantes altera en menor proporción las propiedades de las sustancias húmicas que el NaOH (EX3) considerado como un extractante fuerte de mayor efectividad. Los porcentajes de C en los AF están comprendidos entre 36,21 - 43,51 pero en este caso los valores más altos se obtuvieron en el extracto de NaOH, aunque las diferencias son bajas.

En cuanto a las relaciones E_4/E_6 se observa que en los horizontes AB los valores son mayores que en los horizontes Ap, este parámetro indica que los AH y AF del horizonte AB en ambos suelos son de menor tamaño molecular que las fracciones húmicas del horizonte Ap y, además, que las fracciones húmicas más condensadas se presentan en el suelo Combia.

Los valores de las relaciones E_4/E_6 en los diferentes extractantes permiten concluir que en los AH los mayores tamaños moleculares se obtienen en los extractos de pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 > \text{NaOH} > \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) mientras que en los AF el mayor tamaño corresponde a los extractos con hidróxido de sodio ($\text{NaOH} > \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 > \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$), aunque las diferencias entre los dos últimos extractan-

tes es pequeña, lo que supone una distribución de tamaños moleculares muy similar.

Tamaños moleculares

Cromatografía de exclusión

La fracción húmica del suelo es considerada como un complejo sistema molecular que incluye un intervalo amplio y variado de pesos moleculares relacionados con el tamaño hidrodinámico de las partículas. Los pesos moleculares de los AH generalmente están comprendidos entre 2.000-100.000 Daltons, y una proporción pequeña presenta tamaños superiores a 200.000 Daltons.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de las distribuciones relativas de tamaños moleculares de los AH y AF, de tal manera que T1 corresponde a tamaños moleculares > 150.000 , T2: 150.000-80.000, T3: 80.000-5000 y T4: < 5000 Daltons en los extractos obtenidos con tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sodio respectivamente. Los resultados muestran el predominio de tamaños moleculares superiores a 80.000 Daltons (> 150.000 , 150.000-80.000) en los ácidos húmicos de los horizontes Ap de los dos suelos y, por tanto, presentan mayor tamaño hidrodinámico de partículas que los del horizonte AB del suelo Marsella, siendo a su vez más polidispersos los extraídos con soda (EX3), al presentar distribución de tamaños moleculares más equitativa.

Al comparar los ácidos húmicos de los horizontes Ap, se observa que en el suelo Combia predominan los mayores

Tabla 2. Distribución relativa de tamaños moleculares de los ácidos húmicos y fúlvicos de los suelos Combia (Typic Melanudand) y Marsella (Acrudoxic Fulvudand)

Suelo-Horizonte	Extr.	% relativo de tamaños moleculares								
		Ácidos húmicos				Ácidos Fúlvicos				
		T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	
COMBIA	Ap	EX1	18	51	31	0	-	-	-	-
Typic		EX2	53	41	6	0	-	-	-	-
Melanudand		EX3	26	47	27	0	-	-	-	-
MARSELLA	Ap	EX1	25	25	32	0	5	28	67	0
		EX2	50	50	16	0	7	39	54	0
Acrudoxic		EX3	32	32	31	0	18	35	47	0
Fulvudand	AB	EX1	20	20	25	0	3	19	78	0
		EX2	27	27	33	0	7	30	63	0
		EX3	30	30	18	0	11	54	35	0

EX1, EX2 y EX3 extractos con tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sodio 0,1M respectivamente, T1: > 150.000, T2: 150.000-80.000, T3: 80.000-5000 y T4: < 5000

tamaños moleculares, en especial en los AH extraídos con pirofosfato de sodio, donde más del 50% corresponde a tamaños superiores a 150.000 Daltons. En los AF del suelo Marsella (Acrudoxic Fulvudand) predominan los tamaños moleculares inferiores a 80.000 Daltons, y en un porcentaje muy bajo (3 y 18% en extracto de NaOH) se obtienen pesos moleculares superiores a 150.000 Daltons, es decir, que son de menor tamaño que los ácidos húmicos, lo que está de acuerdo con las características de diferenciación de estos ácidos.

Cameron et al. (18) encontraron tamaños moleculares relativamente bajos

–de 2.500 a 4.500 Daltons– en las fracciones más oxidadas, extraídas con pirofosfato de sodio, y los pesos más altos en los extractos de hidróxido de sodio. En el presente estudio los ácidos fúlvicos extraídos con tetraborato presentaron el menor tamaño (80.000-5.000) mientras que en los ácidos húmicos, menos oxidados, el mayor tamaño se presentó en el extracto de pirofosfato.

Estos resultados están de acuerdo con las relaciones E_4/E_6 (Tabla 1) donde se obtuvieron valores más altos en los ácidos fúlvicos (4,8 a 6,79) que en los húmicos (1,06 a 2,67) y en los horizontes AB que en los Ap, lo que indica me-

nor tamaño de los AF que los AH, además que los ácidos húmicos de los horizontes Ap en ambos suelos son de mayor tamaño molecular que los del horizonte AB.

En síntesis, la distribución de tamaños moleculares permite diferenciar los dos suelos en estudio acorde con su clasificación, puesto que en el suelo Combia Typic Melanudand se presenta un mayor porcentaje de sustancias húmicas con tamaños moleculares superiores a 80.000 Daltons, mientras que en el suelo Marsella, clasificado como Acrudoxic Fulvudand, más del 90% corresponde a moléculas de menor tamaño 80.000-5.000 Daltons; además, los AF predominan sobre los AH (Tabla 1) y, por tanto, desde el punto de vista genético se espera eluviación de las sustancias húmicas como consecuencia de su menor tamaño.

Ultracentrifugación UGD

Para comprender las interacciones y la reactividad de las sustancias húmicas en el sistema edáfico se requiere un conocimiento básico sobre la composición, en tamaño y la estructura de las sustancias húmicas y, dado que es un sistema heterogéneo, es necesario disponer de macromoléculas o asociación de moléculas relativamente homogéneas que satisfagan en lo posible los criterios de pureza, lo cual puede obtenerse con la ultracentrifugación con gradiente acoplada a la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Los AH y AF del suelo Marsella (Acrudoxic Fulvudands), que presentaron mayor absorbancia por cromatografía de exclusión (>150.000, 150.000-80.000, 80.000-5.000), se separaron por ultracen-

trifugación con tres gradientes de concentración con sacarosa.

Los resultados muestran que los ácidos húmicos (AH) con tamaño molecular superior a 150.000 Daltons de los horizontes Ap y AB obtenidos con cada extractante, se separaron en tres bandas bien diferenciadas (Figura 1) situadas a lo largo del gradiente, con predominio en las regiones más densas (15 y 20% sacarosa). En general, se obtuvieron 3 fracciones, donde la de mayor tamaño es afín con la mayor concentración de sacarosa (20%); la fracción intermedia se sitúa en la región propia de la concentración de 15%, y una última es separada en la región correspondiente al 10% de sacarosa; en el extracto de tetraborato de sodio ésta última fue la de mayor área. Los AH de la fracción T3: 80.000-5.000 Daltons, al igual que los T2, se sitúan con preferencia en la región intermedia entre 10 y 15% con bandas bien diferenciadas.

Adicionalmente, se determinaron las relaciones E_4/E_6 de las bandas de mayor absorbancia de las fracciones polidispersas de los AH del suelo Marsella (Tabla 3). De acuerdo con los resultados, los ácidos húmicos del horizonte AB presentan mayor polidispersidad que los de Ap, pues se observa mayor cantidad de bandas en los tres gradientes de sacarosa y en los tres extractantes excepto en las moléculas de menor tamaño, T3 (80.000-5.000 Daltons) que no presenta banda en el extracto de tetraborato.

En el horizonte Ap del suelo Marsella la mayor polidispersidad de los ácidos húmicos (AH) se presenta en las moléculas de mayor tamaño (T1 > 150.000 Daltons), puesto que presenta bandas en

Figura 1. Perfiles de distribución obtenidos por ultracentrifugación con gradiente de sacarosa (5-10-15-20%) de ácidos húmicos del suelo Marsella

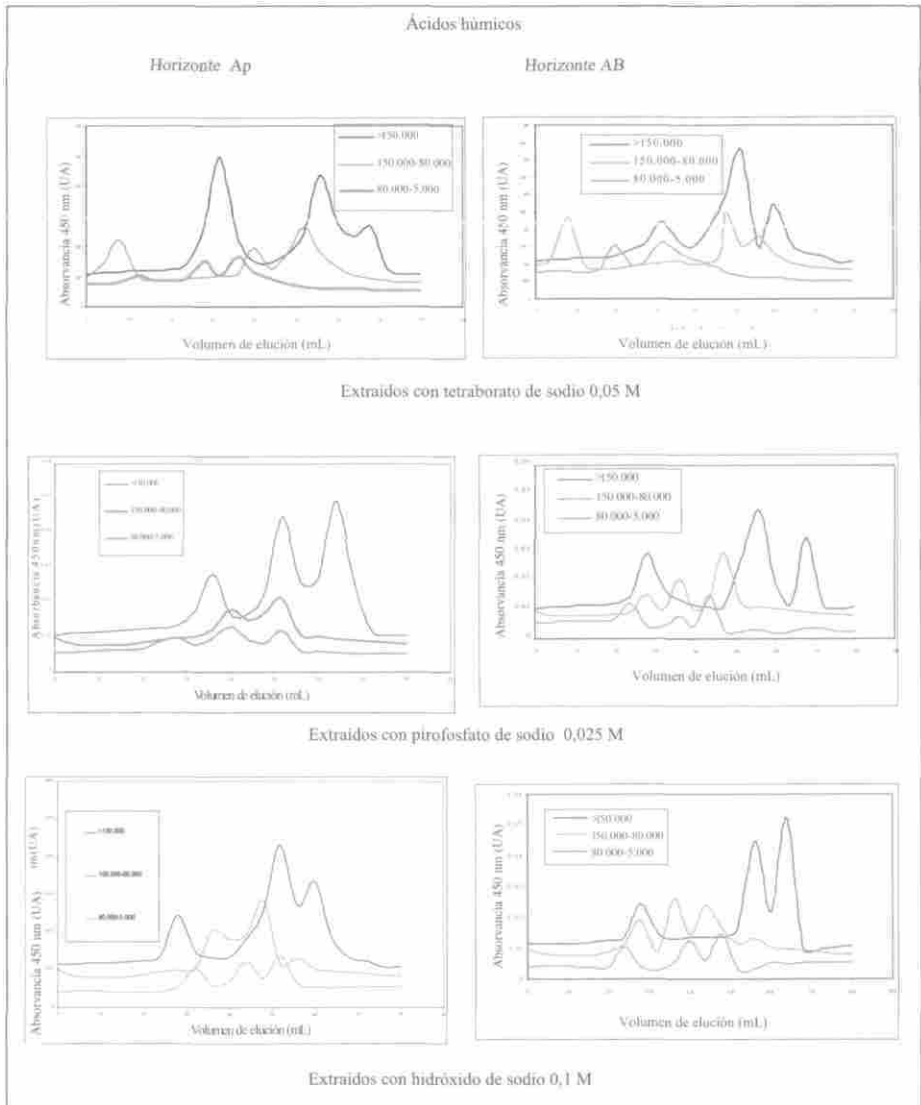


Tabla 3. Coeficientes cromáticos (E4/E6) de las fracciones de AH del suelo Marsella (Acruoxic Fulvudand) obtenidas por ultracentrifugación.

Horizonte	Extractante	E ₄ /E ₆								
		T1			T2			T3		
		B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
Ap	Tetraborato de Na	3,71	2,76	2,52	4,21	3,46	3,23	-	4,57	4,31
	Pirofosfato de Na	3,01	2,43	2,01	-	3,50	3,31	-	4,24	3,97
	Hidróxido de Na	3,54	2,52	2,24	-	3,64	3,39	4,62	4,19	4,09
AB	Tetraborato de Na	4,28	3,14	2,89	4,51	3,63	3,15	-	4,89	4,56
	Pirofosfato de Na	3,51	3,06	2,75	4,36	3,38	3,12	5,23	4,41	4,05
	Hidróxido de na	4,06	3,13	2,77	4,49	3,56	3,21	5,12	4,62	4,16

T1, T2 y T3 se refieren a los intervalos de exclusión molecular: > 150.000, 150.000 - 80.000 y 80.000 - 5.000, y B1, B2 y B3 representan las bandas de mayor absorción (10, 15 y 20%).

Tabla 4. Coeficientes cromáticos (E4/E6) en las fracciones de AF del suelo Marsella obtenidas por ultracentrifugación

Horizonte	Extractante	E4/E6								
		T1			T2			T3		
		B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
Ap	Tetraborato de Na	5,79	-	-	6,78	6,59	6,25	7,33	6,91	-
	Pirofosfato de Na	5,45	-	-	6,47	6,09	-	7,21	6,89	-
	Hidróxido de Na	5,32	5,13	-	6,61	6,50	6,02	7,41	6,67	-
AB	Tetraborato de Na	5,93	-	-	6,74	-	-	8,26	7,89	7,46
	Pirofosfato de Na	5,61	-	-	7,35	7,06	6,55	8,01	7,76	7,12
	Hidróxido de Na	5,88	5,28	-	7,19	6,79	6,38	7,65	7,06	-

T1, T2 y T3 corresponden a los intervalos de exclusión molecular: > 150.000, 150.000 - 80.000 y 80.000 - 5.000, y B1, B2 y B3 representan las bandas de mayor absorción.

todos los gradientes, mientras que las de tamaño comprendido entre 150.000-80.000 no presentan bandas en los extractos de pirofosfato e hidróxido de sodio ni en el tamaño 80.000-5.000 en los extractos de tetraborato e hidróxido de sodio.

Los resultados de SEC y GDU muestran que los AH del horizonte Ap presentan menor E_4/E_6 , mayor tamaño molecular y son menos polidispersos que los AH del horizonte AB.

Las fracciones T2 y T3 (150.000-80.000, 80.000-50.000 Daltons) de los ácidos fúlvicos del horizonte Ap se distribuyen en las tres bandas de concentración de sacarosa (Figura 2). La mayor polidispersidad de los ácidos fúlvicos se obtuvo en los extractos con soda y pirofosfato en el horizonte AB, encontrándose bandas en todos los gradientes de concentración de sacarosa excepto en B3. Tanto los AF como los AH presentan mayor polidispersidad en el horizonte AB donde predominan las sustancias húmicas de menor tamaño molecular; no obstante, en Ap la mayor polidispersidad se obtuvo en los ácidos húmicos en el intervalo de mayor peso molecular >150.000 Daltons (Tabla 3, Fracción T1).

La diferencia en los perfiles obtenida con cada uno de los extractantes, indica que en la polidispersidad influyen otros factores diferentes al tamaño, tales como fuerzas de interacción inter e intramoleculares (enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van der Waal's, enlaces p, puentes con metales multivalentes) e incluso Swift (19) enfatiza en la importancia de las interacciones hidrofóbicas en este proceso.

Es posible que todos estos mecanismos jueguen un papel importante en las interacciones moleculares de las sustancias húmicas en solución y, por tanto, en su comportamiento en el proceso de separación por tamaños moleculares, lo que permitiría, de acuerdo con los resultados de este estudio, diferenciar tipos de ácidos húmicos en Andisoles.

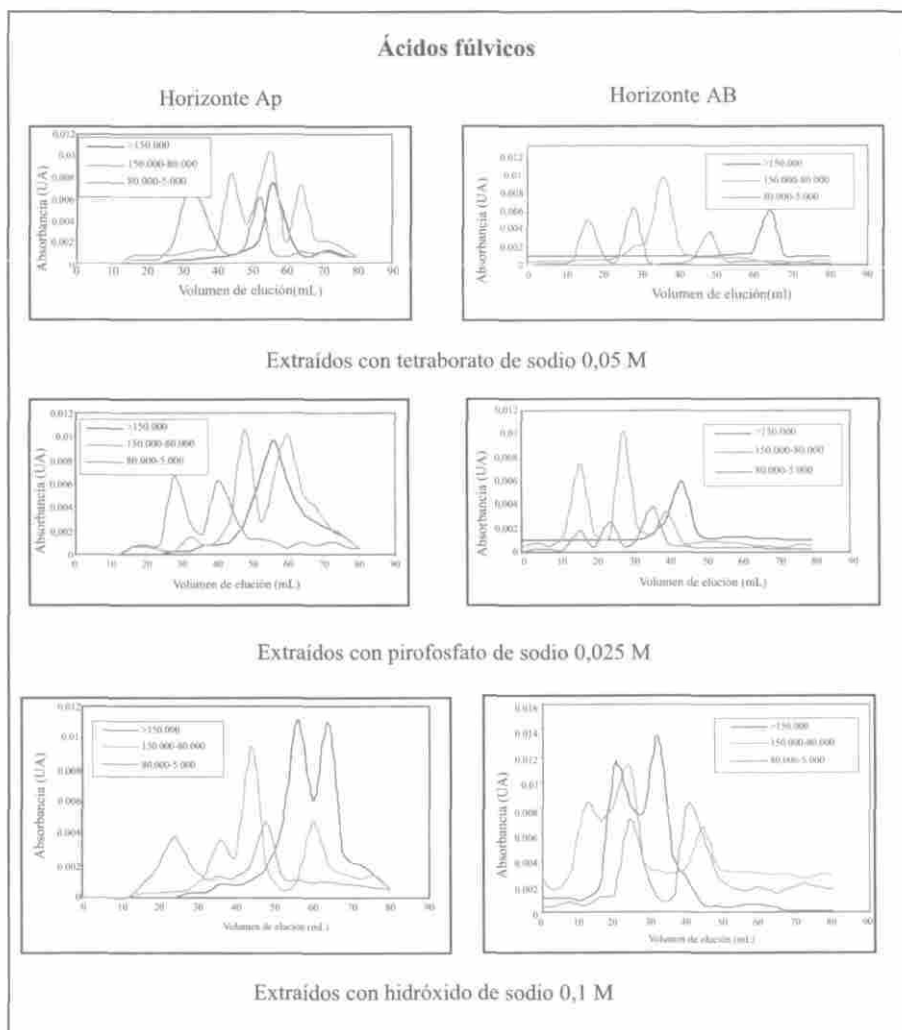
CONCLUSIONES

Los resultados de SEC (cromatografía de exclusión) permitieron comprobar las diferencias entre los horizontes Ap de los dos suelos en estudio acordes con su clasificación; así, en el suelo Combia Typic Melanudand, donde predominan los AH sobre los AF, se presenta un mayor porcentaje de ácidos húmicos con tamaños moleculares superiores a 80.000 Daltons, y en el suelo Marsella, clasificado como Acrudoxic Fulvudand, los AF predominan sobre los AH y presentan predominio de moléculas de menor tamaño (<80.000).

Con las técnicas acopladas (SEC y GDU) utilizadas se encontró que los AF y los AH del suelo Fulvudand presentan mayor polidispersidad en los horizontes AB que en los Ap, donde predominan las sustancias húmicas de menor tamaño molecular, más propicias a la eluviación.

Estos parámetros aportan información sobre la diferencia en la distribución de tamaños moleculares y polidispersidad diversa de los ácidos húmicos y fúlvicos en el horizonte superficial, que usualmente no son considerados en forma directa en la taxonomía pero que pueden complementar y confirmar los espectroscópicos (Índice melánico 1,7)

Figura 2. Perfiles de distribución por ultracentrifugación en gradiente de sacarosa (5-10-15-20%) de los ácidos fúlvicos del suelo Marsella



requeridos para la diferenciación de los Andisoles, a nivel de gran grupo, entre Melanudands o Fulvudands. Contribuyen además a explicar el comportamiento edáfico del componente húmico de estos suelos.

Es posible que el perfil de polidispersidad sea afectado por las fuerzas de interacción inter e intramoleculares presentes en las sustancias húmicas en solución, de acuerdo con las diferencias obtenidas en el comportamiento de los diferentes extractos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Malagón D.; Pulido C.; Llinás R. (1991). Génesis y taxonomía de los Andisoles colombianos, Instituto Geográfico Agustín Codazzi. *Investigaciones* 3 (1):29-32.
2. Luna Z. C. (1968). Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Departamento Agrológico. Anotaciones pedológicas sobre algunos Andisoles de Antioquia. Bogotá: 4 (9): 153.
3. Malagón D.; Uribe C. (1969). Fraccionamiento y tipos de humus en las principales series de la Sabana de Bogotá y en el Valle de Ubaté. Bogotá: *Agricultura Tropical* 25 (12) 795- 808.
4. Olarte R.; Benavides de G. (1971). Estudio sobre la materia orgánica en algunos suelos de Cundinamarca. Bogotá: *Revista del Instituto Geográfico Agustín Codazzi* 2 (1):87-99.
5. Andreux F.; Luna C.; Faivre P. (1978). Un método de fraccionamiento del humus como criterio genético complementario en la caracterización de suelos ándicos en Colombia. *Suelos Ecuatoriales* 9 (1):1-8.
6. Faivre P. Lessivage et planosolisation dans les sequences de sols caractéristiques des milieux intrandins de Colombie (Amerique de Sud). Thésis Université de Nancy. France 1988.
7. Ballesteros J.; Bernal J. Caracterización semicuantitativa de las sustancias húmicas de un Andisol Acrudoxic Melanudands medial amórfico isotérmico del municipio de Chinchiná-Caldas. Proyecto curricular de licenciatura en química. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, 2001:130-213.
8. Bruckert S.; Andreux F.; Correa A.; Ambouta A.; Souchier B. (1978). Fractionnement, physique des agrégats du sols. En: *Proc. 11e Congress A.I.S.S. Edmonton, Canadá*, pp. 8.
9. Andreux F.; Correa A. (1981). Caractères généraux de la matière organique de sols eutrophes et mesotrophes affectes ou non par des migrations particulières. Migrations organo-minérales dans les sols tempérés. Nancy, France. *Colloques Internationaux du C.N.R.S.* pp. 303-329.
10. Melgarejo M. R.; Ballesteros M. I.; Bendeck L. (1998). Caracterización de la fracción orgánica de humus de lombriz y composts producidos a partir de diferentes sustratos. *Rev. Col. Quím.* 27 (1):37-46.
11. Trubetskoj O.; Trubetskaya O.; Reznikova O.; Afanas G. (1999). Weight and optical differences between soil humic acids fractions obtained by coupling SEC-PAGE. *Geoderma* 93, 277-287.
12. Schnitzer M. (1982). Organic Matter Characterization. En: *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties.* USA: Madison Wisconsin, pp. 581-593.
13. De Nobili M.; Chen Y. (1999). Size exclusion chromatography of humic

- sustances: Limits, perspectives and prospectives. *Soil Sci.* **164**, 825- 833.
14. Griffith O. M. (1986). Techniques of preparative, zonal, and continuous flow ultracentrifugation. Spinco division, Beckman instruments, Inc., 50 p.
 15. Griffith O. M. (1990). Instructions for using the type 45 Ti rotor in preparative ultracentrifuges. Spinco division, Beckman instruments, Inc. p 15.
 16. Sheeler P. (1981). *Centrifugation in Biology and Medical Science*. New York: John Wiley and Sons, p. 268.
 17. Posner A. M.; Creeth J. M. (1972). A study of humic acid by equilibrium ultracentrifugation. *J Soil Sci* **23**, 333-341.
 18. Cameron R. S.; Thornton B. K.; Swift R. S.; Posner A. M. (1974). Molecular weight and shape from sedimentation and diffusion measurements on fractionated humic acid. *J. Soil Sci.* **23**, 342-350.
 19. Swift R. S. (1999). Macromolecular properties of soil humic substances: Fact, fiction, and opinion. *Soil Sci.* **164**, 790-803.
 20. Herrera J. A. Determinación del tamaño molecular y del área superficial del componente húmico de Andisoles de Colombia. Trabajo de grado, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, 2002, p. 65-85.