

La **cromatografía** aplicada a la **agroecología**



Develar el rostro de los suelos





La **cromatografía** **aplicada** a la **agroecología**

Develar el rostro de los suelos



La cromatografía aplicada a la agroecología

Develar el rostro de los suelos

Una publicación de la **Fundación Heifer Ecuador**

Dirección Heifer Ecuador:

Rosa Rodríguez

Esta publicación es parte del proyecto *"Saberes y sabores. Mejora de productividad y nutrición de familias campesinas/indígenas en el centro del Ecuador"*.

Coordinación:

Fernanda Vallejo

Autor del documento:

Francisco Abad Santana

Edición:

Sandra Ojeda

Silvana González

Fotografía:

Fundación Heifer Ecuador

Diseño, diagramación e impresión:

Manthra Comunicación

ISBN:

978-9942-8551-5-2

Quito - Ecuador, 2018

Fundación Heifer Ecuador

Dirección José Luis Tamayo N24-587 y Salazar. Quito-Ecuador



(592 2) 2501427/2908985



fundacionheifer@heifer-ecuador.org

Web

www.heifer-ecuador.org



Heifer Ecuador



@HeiferEcuador

Se autoriza la reproducción citando la fuente e informando a la Fundación Heifer Ecuador.



Índice

Sobre Heifer Ecuador	5
Prólogo	7
1. ¿Cómo se forma el suelo?	12
2. Cromatografía.....	14
Cromatografía plana.....	15
Cromatografía en columnas.....	15
3. Las tres M de la producción agroecológica.....	17
4. ¿Por qué se produce la desertificación y la erosión de los suelos?	19
5. Técnicas para contrarrestar estas amenazas	21
6. ¿Qué es la cromatografía?	22
7. ¿De qué nos sirve la cromatografía en la agroecología?	25
8. ¿Cómo hacer un análisis cromatológico de los suelos?	27
Materiales	27
Cantidades de reactivos y de muestras para la cromatografía	28
Pasos a seguir para el análisis cromatográfico.....	29

a) Toma de muestras de suelo para la cromatografía	29
b) Secado, molido y pesaje de las muestras de suelo.....	30
c) Análisis de la calidad de biofermentos (biol) con aplicación de alcohol etílico al 96%.....	31
d) Preparación de las soluciones y del papel filtro	32
e) Disolución de la muestra de suelo con la solución de hidróxido de sodio	34
f) Preparación del papel filtro circular para el análisis cromatográfico.....	35
g) Impregnación del papel filtro con la solución de nitrato de plata.....	38
h) Análisis de suelo. Corrida final de la muestra.....	41
i) Secado o revelado.....	43
9. Cromatogramas y su interpretación	47
10. Bibliografía.....	51



Sobre Heifer Ecuador

La Fundación Heifer Ecuador es una organización no gubernamental ecuatoriana, vinculada a Heifer Internacional, que trabaja junto a las familias productoras de alimentos. Heifer Internacional ha apoyado a las organizaciones indígenas y campesinas en el Ecuador desde 1954, en programas e iniciativas encaminadas hacia el desarrollo de cadenas de valor sostenibles, con enfoque integral y participativo.

Heifer Ecuador se constituye como organización no gubernamental ecuatoriana desde 1993 y apoya principalmente emprendimientos agroproductivos en manos campesinas. Promueve la innovación para generar ingresos, crear empleo, aumentar la productividad y mejorar el ambiente y las condiciones de vida, especialmente para mujeres y jóvenes. Con un enfoque de ecosistema, en donde la conservación es un eje fundamental, fortalecemos las cadenas de valor que favorecen la participación campesina, dotamos a las familias de conocimientos prácticos que transforman las economías locales. Promovemos alianzas que permiten acelerar los procesos con el fortalecimiento de las empresas sociales campesinas.

La misión de Heifer Internacional es trabajar junto a las comunidades para erradicar el hambre y la pobreza, cuidando la Tierra. Heifer Ecuador asume la misión de Heifer Internacional, y la articula con los objetivos de la soberanía alimentaria.

En todos nuestros proyectos promovemos negocios rurales inclusivos que incrementan las ventajas en la

producción, la transformación y la comercialización de productos campesinos. Estas empresas sociales promueven la producción, aseguran y diversifican la generación de ingresos; de esta manera, mejora la disponibilidad y el acceso de alimentos para las familias y para los consumidores. Cuidamos el ambiente a través de la agroecología y la gestión de los recursos naturales.

Ponemos énfasis en la generación de espacios de equidad para las mujeres, promovemos su liderazgo a través de la capacitación y el acceso a recursos para un nuevo rol, y construimos capital social con comunidades organizadas y empoderadas.

Trabajamos en cinco programas: *Pacha*. Páramos, camélidos e hilos andinos. *Ganasol*. Ganadería y agricultura sostenible en laderas andinas. *Promesa*. Mejoramiento económico y seguridad alimentaria en café, cacao y otros productos. *Sanseco*. Seguridad nutricional y alimentaria en el corredor sur y centroamericano. *Procosta*. Manejo sostenible de manglares y ecosistemas marino costeros.

Hemos rescatado, a través de nuestras publicaciones, los saberes de las familias campesinas en temas como la crianza de semillas, alimentos, el trabajo comunitario, la innovación y el emprendimiento y la cultura, a través del calendario agrofestivo y su relación con la producción. Además, generamos materiales de capacitación para que las familias campesinas puedan acceder a información de calidad.

La Fundación Heifer Ecuador comparte herramientas productivas y saberes que crean oportunidades para las familias campesinas y que promueven cambios en la vida comunitaria.



Prólogo

El 2015 fue declarado por la FAO como el Año Internacional de los Suelos. Esta enunciación reconoce que los suelos sanos son la base para la producción de alimentos saludables. Los suelos en equilibrio sostienen la biodiversidad del planeta; ayudan a combatir y adaptarse al cambio climático; almacenan agua, mejoran la resistencia a las sequías e inundaciones; y, son un recurso no renovable cuya conservación es esencial para la seguridad alimentaria y el futuro.¹ Sin embargo, es necesario admitir lo poco que sabemos sobre ellos. Por lo tanto, a la par de aceptar su importancia, se plantea, entre otros objetivos de esta declaratoria, educar al público sobre el papel fundamental que juegan los suelos para la seguridad alimentaria, la mitigación de la pobreza y el desarrollo sostenible, y para promover la recopilación de información sobre el suelo a varios niveles.²

Se estima que anualmente, en el mundo, se pierden entre 5 y 7 millones de hectáreas de suelo fértil por minuto,³ que equivalen a cerca de 30 canchas de fútbol.⁴ Las prácticas agrícolas inadecuadas se encuentran entre los factores causantes de esta pérdida. Datos del 2011 estiman que en el Ecuador se pierden 40.000 hectáreas al año de suelo,⁵ lo

1 Ver: <http://www.fao.org/soils-2015/about/key-messages/es/>

2 Ver: <http://www.fao.org/soils-2015/about/es/>

3 Ver: <http://www.fao.org/docrep/u8480e/u8480e0d.ht>

4 Ver: <http://saveoursoils.com/news/158/julia-roberts-urges-consumers-worldwide-to-save-our-soils.html>

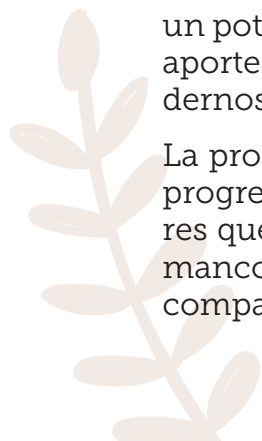
5 Ver: <http://www.slideshare.net/gconformeozeta/estudio-compileatorio-de-degradacion-de-los-suelos-en-el-ecuador-ing-gonzalo-conforme>

que provoca graves consecuencias en la capacidad campesina de producir los alimentos.

No existe discusión sobre el aporte de la agroecología a la conservación y manejo sostenible de los suelos. La diversificación que practican los campesinos y las campesinas en el mundo asegura un mejor aprovechamiento del espacio; da tiempo para la regeneración de los nutrientes del suelo; disminuye la escorrentía y permite la acción de los microorganismos del suelo, responsables de la transformación de materia orgánica en minerales. Sin embargo, las familias campesinas tienen limitado acceso a técnicas que permitan diagnosticar la situación de sus suelos, planificar acciones sobre la base de estos diagnósticos, y compartir sus resultados y aprendizajes sobre el manejo y conservación de suelos con sus pares y otras personas, como los tomadores de decisiones sobre políticas públicas, que podrían promover la agroecología.

Las campesinas y campesinos son, ante todo, investigadores. Su capacidad de observación y experimentación cotidiana de cada cambio que se produce durante el proceso cultural, su necesidad de ensayo permanente, así como su continua sistematización práctica de los aprendizajes, les otorga un potencial autogestionario muy fuerte que, con el aporte de técnicas y conocimientos científicos modernos, se potencia ilimitadamente.

La producción con enfoque agroecológico permite progresivamente una interacción entre agricultores que provoca dinámicas de aprendizaje y trabajo mancomunado muy fuertes. Juntos, aprendiendo y compartiendo saberes y recursos, recrean la vida y





el alimento, desde el saber ancestral hasta la técnica moderna que se acople a sus necesidades y a su proyecto existencial.

En ese entendido, organizaciones campesinas que fomentan la agroecología como una perspectiva de crianza, que construye autonomía y soberanía territorial, alimentaria y de conocimiento, junto con Heifer Ecuador, han venido incorporando nuevos conocimientos y prácticas que vitalizan el quehacer agropecuario, lo que ha fortalecido el tejido organizativo entre campesinos y campesinas.

Es, en esta perspectiva, que emprendimos la tarea de identificar formas alternativas para diagnosticar la calidad de los suelos, que, al tiempo que proporcionan información vital para las decisiones agrícolas, empoderen de saber a campesinas y campesinos. De este modo, incursionamos en el aprendizaje de la cromatografía para gestionar autónomamente, paso a paso, el conocimiento de nuestros suelos.

La aplicación de esta técnica no está exenta de complejidades, desde la obtención de los reactivos necesarios hasta la identificación adecuada de los resultados. No obstante, es pertinente respecto de las necesidades de agricultoras y agricultores; y, a su vez, los participantes del taller que sistematizamos a continuación, mostraron ser perfectamente capaces de aplicar esta técnica y gestionarla en colectivo. La respuesta ha sido sorprendente: el uso de la cromatografía se va extendiendo y cada vez requiere menos acompañamiento.

El presente manual es fruto de un proceso teórico práctico y participativo, ejecutado con productores de distintas zonas del país, que asistieron a un taller de tres días. Se partió del conocimiento tradicional que tienen los campesinos para analizar la calidad de su suelo, y se incorporaron principios y procesos técnicos que cualifican esos conocimientos y les dotan de mayores elementos para el análisis. Los campesinos, al terminar el taller, fueron capaces de identificar a través de los colores prevalentes de sus suelos, la composición física y química, y determinar los requerimientos nutricionales. Registraron los micronutrientes y minerales que son necesarios para lograr suelos fértiles y balanceados y que garantizan una producción agroecológica óptima.

Estos fueron los participantes de este encuentro de saberes que contó con la colaboración de Francisco Abad Santana⁶ como facilitador:

⁶ Francisco Javier Abad Santana, ingeniero agrónomo con enfoque en una producción limpia, agroecológica, que respeta el entorno y al consumidor. Investigador de la relación entre cromatografía en papel y análisis convencionales. Ha participado en cursos de agricultura orgánica y agroecología con facilitadores nacionales e internacionales. Apoya procesos productivos con grupos de agricultores y productores.

Talleristas:

- **Segundo Álvares.** Comunidad Sabloc, Guamote, Chimborazo.
- **Florencio Castillo Palma.** Asociación de Agricultores y Productores de Manglaralto, Santa Elena.
- **José Armando Berrú.** Organización UCOCPE, Espíndola, Loja.
- **José Vicente.** Organización UCOCPE, Espíndola, Loja.
- **Isabel Toapanta.** Organización PACAT, Tungurahua.
- **Miguel Andrade.** Organización FOCAZNOM, San Vicente, Manabí.
- **Maruja Morocho.** Organización Escuelas Radiofónicas (ERPE), Chimborazo.
- **María del Carmen Paucar.** Organización Escuelas Radiofónicas (ERPE), Chimborazo.
- **José Valentín Bocón.** Comunidad Chismaute, Guamote, Chimborazo.
- **Carlos Amayuaga Supe.** Organización PACAT, Tungurahua.
- **Alba Colcha.** Comunidad Balcashi, Quimiag, Chimborazo.
- **María Yupangui.** Comunidad Balcashi, Quimiag, Chimborazo.
- **Esteban Cachipud.** Asociación de Chacareros del Movimiento Indígena de Chimborazo.
- **Noé Carlosama.** Comunidad Zuleta, Pichincha.
- **Patricio Salas.** Fundación Heifer Ecuador.
- **Fausto Sanaguano.** Fundación Heifer Ecuador.

A todos ellos les agradecemos por su activa participación y ponemos a consideración de nuestro lectores los resultados obtenidos.

Susy Pinos⁷ y Fernanda Vallejo⁸

⁷ Ingeniera en Ciencias Agrícolas, ecuatoriana.

⁸ Antropóloga ecuatoriana.

1. ¿Cómo se forma el suelo?

La formación y conservación del suelo es un proceso largo y complejo. Un centímetro de espesor de suelo tarda 1200 años en formarse.

El suelo empieza a formarse con la acción de la lluvia y otros fenómenos naturales sobre las rocas. Estas van desprendiendo partículas, que son rodeadas de microorganismos como hongos, líquenes y musgos. Los microorganismos extraen y liberan los minerales que ayudan al suelo a estar fértil y vivo.



Toma de muestra de suelo con pala.



Toma de muestra de suelo con barreno.

Los nutrientes deben estar en el suelo para que las raíces puedan hacer su labor. Por eso, es muy importante rotar los cultivos. Así, las diferentes raíces con distintos hábitos y formas trasladan los nutrientes desde las partes más profundas hacia la superficie. De esa manera, todas las plantas pueden utilizarlos.

La asociación entre la microbiología del suelo y las raíces de las plantas es fundamental. Este trabajo en grupo –o simbiosis– permite nutrir tanto a los microorganismos como a las plantas, y proteger a las raíces con organismos favorables. Algunos experimentos muestran que un centímetro de raíz sana puede estar cubierto por un metro lineal de hongos.

2. Cromatografía

La cromatografía es un método físico de separación de mezclas complejas para caracterizarlas. Se aplica en las distintas ramas de la ciencia. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla para identificarlos y, en muchos casos, determinar las cantidades de dichos componentes (Restrepo & Pinheiro, 2011).

Las técnicas cromatográficas son muy variadas, pero en todas ellas hay una fase móvil, que consiste en un fluido que arrastra la muestra de una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido fijado en un sólido. Los componentes de las mezclas interactúan en distinta forma en la fase estacionaria. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a diferentes velocidades, y se van separando. Después de que los componentes han transitado por la fase estacionaria y se separan, pasan por un detector que genera una señal que depende de la concentración y del tipo de compuesto. Dicho proceso puede ser realizado a través de técnicas aplicadas de manera plana o en columnas.



Cromatografía plana

La fase estacionaria se efectúa sobre una placa plana o sobre un papel. Según esto, puede ser:

- Cromatografía en papel
- Cromatografía en capas finas



Secado de muestras de suelo.
Muestra en sombra, sin estar expuesta a luz directa.

Cromatografía en columnas

La fase estacionaria se sitúa dentro de una columna. Según el fluido empleado en la fase móvil, pueden ser:

- Cromatografía de líquidos
- Cromatografía de gases
- Cromatografía de fluidos supercríticos

La cromatografía presentada en esta publicación permite determinar, de manera cualitativa y sencilla, la vida del suelo y su relación entre minerales, microbiología, materia orgánica, humificación, carbono del suelo, desequilibrios y equilibrios, respiración del suelo, residuos tóxicos, entre otros.

Los patrones han sido establecidos por varios investigadores, principalmente E. Pfeiffer,⁹ y corresponden al análisis de suelos, abonos orgánicos y humus, con el fin de facilitar la interpretación de los cromas. A partir de esto, se ha considerado la metodología y los criterios preestablecidos por E. Pfeiffer, para determinar los parámetros para la interpretación de los suelos (Restrepo, 2011).



Muestras de suelo secas en sombra, listas para ser analizadas.

⁹ Bioquímico alemán (1899-1961) que se dedicó de lleno al estudio de la calidad de los suelos usando la cromatografía.

3. Las tres M de la producción agroecológica

La agricultura trabaja con la vida. No debemos desconfiar de nuevas técnicas de análisis de suelos, como las que están aplicando Juan José Paniagua¹⁰ en Costa Rica; Fausto Falconí¹¹ o Francisco Gangotena¹² en Ecuador. Tampoco es momento de apartarnos de este tema, en un país como el nuestro, que necesita con urgencia mejorar su producción agrícola.

Para la producción orgánica (biodiversa y agroecológica), se deben tomar en cuenta las tres M: Materia orgánica, Minerales y Microbiología.



a) Materia orgánica: comprende todos los restos de origen orgánico.



b) Minerales: se encuentran en el suelo y en todos los elementos de origen orgánico que se depositan en el suelo. Al finalizar su ciclo de vida, estos elementos devuelven los minerales al sistema en el que se encuentran.



c) Microbiología: son los organismos vivos que se encuentran en el suelo.

¹⁰ Pionero de la agricultura orgánica en Costa Rica.

¹¹ Productor agroecológico ecuatoriano.

¹² Propietario de una finca agroecológica.



Manto de bosque que sirve de inóculo para la propagación de microorganismos eficientes.

Las tres M son como las tres patas de un taburete: están enlazadas y trabajan de manera conjunta. La materia orgánica se descompone por acción de la microbiología y se transforma en minerales. Estos nutren al suelo y se transforman en alimento para la planta. Luego se repite el círculo de muerte y descomposición de la planta, que se convierte de nuevo en materia orgánica.

En cambio, la producción con químicos mata a los microorganismos que existen en el suelo. Al eliminar a los elementos de la microbiología, no es posible que la materia orgánica se descomponga y, por lo tanto, se impide la producción de minerales en nuestros terrenos.

Por eso es importante que, al sacar el rastrojo de los terrenos, lo incorporemos nuevamente como compost, bokashi, mulch u otras formas de materia orgánica transformada. Así se reponen, en parte, los nutrientes extraídos del suelo. Debemos lograr que el suelo se nutra de forma permanente.

4. ¿Por qué se produce la desertificación y la erosión de los suelos?

El uso de agrotóxicos ocasiona que los suelos contengan cada vez más residuos perjudiciales que limitan la vida. Uno de los efectos de su uso es la desertificación. Si eliminamos la vida que existe en nuestros suelos, estamos matando la vida que los alimenta.

La dependencia de estos insumos químicos se debe al abuso, la utilización intensiva durante la producción obliga a usarlos con mayor frecuencia. Estos productos van destruyendo los suelos y los vuelven cada vez más dependientes de insumos externos, ya que se le quita la capacidad de producir y reciclar sus propios nutrientes. Con el tiempo, el uso irracional de agrotóxicos afecta la salud y la economía de los productores, e irremediablemente provoca la muerte de los suelos.



Esos procesos pueden acelerarse debido al tipo de herramientas utilizadas en el arado. En ese sentido, el uso de maquinaria pesada para arar el suelo, como los tractores con implementos que compactan y erosionan el suelo, debe ser analizado desde el enfoque de la conservación y no de la extracción.

Hay diferentes formas de contrarrestar las amenazas que tiene el suelo; lo importante es tener la convicción de querer protegerlo y, por consiguiente, de proteger la vida. Entre las prácticas de conservación, es muy recomendable rotar los cultivos y labrar con herramientas apropiadas; por ejemplo, el arado con bueyes ayuda a preservar los suelos. Otras técnicas ancestrales contribuyen de la misma manera.

Manto de bosque colectado para multiplicación de microorganismos eficientes.



5. Técnicas para contrarrestar estas amenazas

Las siguientes tecnologías ayudan a proteger nuestros suelos:



- Biofermentos obtenidos del excremento de vaca y biofertilizantes con plantas nativas.
- Producción de fósforos a partir del fosfito.
- Uso de bokashi.
- Inoculación de microorganismos.
- Remineralización de suelos con harina de rocas.
- Uso de caldos minerales.
- Asociaciones de cultivos a todo nivel.

A este listado de tecnologías debemos añadir la cromatografía aplicada, que permite analizar y evaluar la calidad de los elementos de los suelos.



6. ¿Qué es la cromatografía?

Es un método sencillo que permite tener una visión de las relaciones físicas, químicas y biológicas de los suelos. La cromatografía fue utilizada por algunos científicos, cuyas ideas coincidían con las de movimientos que cuestionaban la revolución verde.¹³ La persecución que sufrieron estos científicos mantuvo oculto este método en los Países Bajos.



Revelado de diferentes cromatogramas analizados con los participantes del taller.

Los holandeses Adri y Jaap Bakker, herederos de este conocimiento, compartieron sus saberes con Jairo Restrepo (colombiano) y Sebastián Pinheiro (brasileño). Los latinoamericanos eran ingenieros agrónomos, expertos en producción agrícola orgánica. Restrepo y Pinheiro aplicaron la cromatografía para analizar 6.757 muestras de 37 países de la región. Dos de estas muestras procedían de Ecuador.

¹³ En las últimas cinco décadas, la agricultura mundial se ha orientado hacia el paradigma de la "revolución verde", que incrementa la dependencia de insumos sintéticos para monocultivos, lo que ha contribuido al deterioro ambiental. (<http://www.elementos.buap.mx/>)

La cromatografía reúne un conjunto de técnicas que separan los componentes de una mezcla. Cuando se aplica este método a los suelos, es posible identificar cómo se interrelacionan los minerales, la materia orgánica, los microorganismos y el abono en la tierra. Pfeiffer decía que “un suelo vivo tiene una cara” muy diferente de la de un suelo muerto.¹⁴

La cromatografía es una herramienta que nos ayuda a recuperar la vida de los suelos y, al mismo tiempo, a producir alimentos sanos y nutritivos. La aplicación de este método no es costosa. En Ecuador, el precio aproximado por análisis es de 1,80 dólares, que son los gastos derivados de la compra de materiales.

Propiamente, la cromatografía posibilita analizar las cualidades de una muestra de suelo. Para ello, se utiliza un papel filtro (tipo de papel que cambia de color), con forma circular.

Los componentes de la muestra se separan mediante la acción de dos efectos contrapuestos:

- **Retención.** Es el tiempo en el que la solución de suelo se mantiene en reposo con el solvente (hidróxido de sodio). En este proceso se diluyen los elementos presentes en el suelo para ser analizado.

¹⁴ Ver: www.mashumus.com

- **Desplazamiento.** Fase en la cual la solución de suelo recorre el papel filtro. En este proceso, las sustancias recorrerán menos espacio que las sustancias livianas debido a la composición de elementos presentes en la solución de suelo.

Para entender mejor los términos, pensemos en un río correntoso donde hay una balsa, un bote y un buque amarrados entre ellos. Al cortar la cuerda que los tiene amarrados, la balsa es llevada rápidamente hacia la orilla del río, el bote va más despacio, y el buque se desplaza más lentamente y llega último a la otra orilla. El tiempo adicional que se demora el buque en comparación con la balsa y el bote es la retención. El agua del río en la que se desplazan el buque, la balsa y el bote es la fase líquida o desplazamiento.¹⁵

¹⁵ Agradecemos a Eduardo Pinos por la aclaración de los términos.

Revelado de un cromatograma de biofermento de estiércol de vaca supermagro.



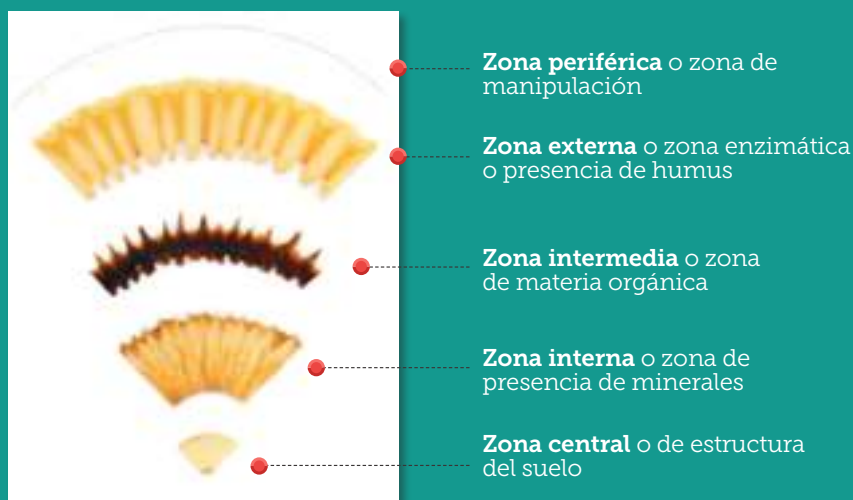
7. ¿De qué nos sirve la cromatografía en la agroecología?

La cromatografía permite tener un análisis cualitativo del suelo, a través de sus formas, colores e interrelaciones. Como resultado de ello, es posible contar con un diagnóstico de nuestros suelos.

Este método ayuda a determinar la vida del suelo, la calidad de vida de ese suelo, y la relación entre la materia orgánica y la mineralización, de modo que se produzca la humificación¹⁶ del suelo. El humus es la capa superior del suelo, compuesta por un conjunto de materias orgánicas en descomposición, como hongos y bacterias.

El cromatograma se divide por zonas, que corresponden a diferentes espacios del recorrido de los compuestos presentes en la solución de suelo analizada. Los mentalizadores de esta técnica han clasi-

¹⁶ Transformación química y biológica de la materia orgánica en humus.



ficado en cinco zonas, en función de sus cualidades, como podemos observar en el gráfico de la página anterior.

El conjunto de estas zonas nos presenta una mirada cualitativa de los suelos. La interacción de cada una de las zonas mencionadas debe mezclarse o matizarse con la siguiente, señalando la unión de los componentes mencionados hasta llegar a la zona externa donde se indica todo el proceso de humificación, a partir de los componentes minerales, materia orgánica y microbiología. En un suelo sano, los colores son de tonos dorados, amarillos, cafés claros. En suelos destruidos y/o contaminados, tenemos colores oscuros, negros, grises, verdes oscuros, y no se integran las zonas del cromatograma; se muestran claramente divididos.



**Cromatograma de
un suelo sano**

**Cromatograma de un
suelo destruido y/o
contaminado**



8. ¿Cómo hacer un análisis cromatológico de los suelos?

Materiales



- Hidróxido de sodio (no es de venta libre; se necesita un permiso que se debe tramitar en la Secretaría Técnica de Drogas)¹⁷



- Nitrato de plata (cuidarlo de la luz)
- Agua destilada o agua de lluvia
- Papel de filtro
- Balanza de gramos
- Tubo de probeta o vaso graduado
- Cajas Petri desechables (una grande de 10 cm y una pequeña de 4 cm)



- Un frasco para el hidróxido de sodio
- Un mortero (se puede reemplazar con platos de loza o cerámica)
- Sacabocados de 2 milímetros



- Tijera
- Regla
- Hojas de papel bond
- Papel toalla
- Vasos de vidrio o de plástico (preferible marca Herlenmeyer)



- Jeringas
- Sartén
- Cera o parafina
- Papel tamaño oficio

¹⁷ <http://www.prevenciondrogas.gob.ec/> Sugerimos que este permiso se lo gestione de manera colectiva para un grupo de agricultores.



Pesaje de las muestras de suelo para su análisis.

Cantidades de reactivos y de muestras para la cromatografía

Para las diversas muestras de cromatografía, se deben considerar las siguientes cantidades:

- Muestra de suelo: 200 gramos (media libra).
- Muestra de bioles: 10 a 15 mililitros o centímetros cúbicos.
- Muestras de pulpas, tallos y hojas: 2,5 gramos.
- Nitrato de plata (cuidar de la luz): 0,5 gramos disueltos en 100 mililitros de agua destilada.
- Hidróxido de sodio: 10 gramos disueltos en 1000 mililitros (para suelo). 1 gramo en 100 mililitros o centímetros cúbicos de agua (para pulpas).



Pasos a seguir para el análisis cromatográfico

a) Toma de muestras de suelo para la cromatografía

- Se recoge $\frac{1}{2}$ kilo de muestras de suelo, con barreño y pala. La muestra debe estar totalmente seca.
- La recolección de las muestras se realiza de acuerdo con los tipos de cultivos; por ejemplo, para hortalizas, las profundidades van de 10 a 30 centímetros; para pastizales, de 20 a 40 centímetros; y, para frutales, de 20 a 150 centímetros. La muestra debe contener material de diferentes profundidades.
- En la toma de la muestra, hay que eliminar la parte superficial de suelo (más o menos unos 2,5 centímetros), pues está más expuesta a factores externos, lo que interfiere en la calidad y precisión del análisis y su interpretación.
- Se debe colocar cada muestra en una funda plástica. Luego, se etiqueta cada funda para saber de qué lugar se extrajo, a qué profundidad y de qué tipo de cultivo.



Toma de muestra con tubo en terrenos de El Troje.



Toma de muestra con pala en terrenos de El Troje.

b) Secado, molido y pesaje de las muestras de suelo

- Una vez tomadas las muestras de suelo, el siguiente paso es el secado. Para ello, se debe utilizar el papel bond. A fin de no contaminar las muestras, es importante sacar los materiales gruesos, como restos de vegetales y piedras.
- **El secado.** Es recomendable secar las muestras a la sombra, no directamente al sol; peor aún en hornos o cocinas, ya que en esos casos no es posible controlar la temperatura.
- **El molido.** Una vez secas las muestras, se pasan por un colador o cernidera de plástico, para conseguir mayor uniformidad de las partículas. A continuación, se coge una porción para molerla. Para esto, se pueden utilizar morteros de porcelana o platos de cerámica y un vaso de vidrio.
- **El pesaje.** Por último, se obtiene un polvo fino de la muestra que se pesa para obtener la cantidad necesaria: 5 gramos listos para el análisis.



Tamizaje de las muestras.



Molido de las muestras.



Pesaje de los 5 gramos de suelo.



Evaluación de calidad de biofermentos a partir de pruebas de proteína con alcohol al 96%.

c) Análisis de la calidad de biofermentos (biol) con aplicación de alcohol etílico al 96%

- En un vaso de cristal, se coloca una porción de alcohol etílico (alcohol al 96%) y una porción de biol, de igual volumen. El alcohol reacciona con el biol de forma inmediata. Si la muestra se calienta, significa que existe una buena presencia de material biológico. Luego se forman grumos, que se precipitan como coágulos proteicos. Mientras más grumos aparezcan, quiere decir que la cantidad de nitrógeno del biol es mejor.
- Los análisis de las muestras evidencian que los bioles con estiércol de vaca son mejores, por su cantidad de proteína. Los coágulos precipitados son un indicador de buena calidad.

d) Preparación de las soluciones y del papel filtro

La preparación del hidróxido de sodio sirve para disolver la muestra de suelo, mientras que la preparación de la solución del nitrato de plata ayuda a sensibilizar el papel para el análisis de la muestra.

Preparación de la solución de hidróxido de sodio

- Se necesitan 50 mililitros o centímetros cúbicos de solución de hidróxido de sodio al 1% para cada muestra de 5 gramos de suelo. Eso significa 10 gramos de hidróxido de sodio disueltos en 1000 centímetros cúbicos de agua destilada (esto equivale a 1 litro de agua). Si no se dispone de agua destilada, puede utilizar agua de lluvia recogida en un recipiente de plástico limpio.
- Se debe preparar la solución del hidróxido de sodio para todas las muestras de suelo disponibles. Como se señaló, se necesitan 50 centímetros cúbicos de solución para cada muestra de suelo de 5 gramos.
- Se disuelve el hidróxido de sodio en agua, en recipientes limpios.



Preparación de volumen correcto para la solución de hidróxido de sodio.

Preparación de la solución de nitrato de plata

- Se necesita una solución de nitrato de plata al 0,5%. Eso significa que se debe colocar 0,5 gramos de nitrato de plata en 100 mililitros o centímetros cúbicos de agua destilada, o agua de lluvia.
- Esta actividad se debe realizar en un lugar oscuro, para evitar el reflejo de la luz del sol.
- La cantidad de solución indicada alcanza para impregnar 60 papeles filtro aproximadamente.
- Es indispensable que la solución no se exponga a la luz. Debe colocársela en un frasco oscuro. Se puede almacenar la solución durante un corto tiempo.
- Se deben etiquetar los recipientes.

Medición de 50 cc de hidróxido de sodio para preparación de solución de suelo.



e) Disolución de la muestra de suelo con la solución de hidróxido de sodio

- Cada muestra de 5 gramos de suelo se coloca en un frasco de vidrio.
- Luego, se vierten los 50 centímetros cúbicos de la solución de hidróxido de sodio en cada frasco. Con movimientos leves, se va mezclando, dando la vuelta: 7 veces hacia la izquierda y 7 veces hacia la derecha, durante un minuto. Hay que evitar que el líquido se salga del vaso.
- Después de 15 minutos, se mueve durante otros dos minutos, como se hizo la primera vez y se deja reposar.
- Transcurrida una hora de reposo, se vuelve a mover como se hizo anteriormente.
- Por último, se deja reposar la mezcla durante 6 horas, para luego empezar el análisis.



Mezcla de la solución de hidróxido de sodio y la muestra de suelo.



Giros circulares para preparación de muestra para el análisis.

f) Preparación del papel filtro circular para el análisis cromatográfico

Para preparar una matriz de hoja de papel filtro para analizar la solución del suelo, se aplican los siguientes pasos:

- Se dobla la hoja de papel filtro en cuatro partes; doblar a la mitad y luego a la otra mitad para identificar el centro y crear una guía para perforar los demás papeles. A este primer papel se lo llama papel matriz.



En esta hoja de papel doblado, considerada como la matriz, se mide desde el centro hacia afuera 4 centímetros y luego 6 centímetros. Estos son los límites para impregnar el nitrato de plata (hasta los 4 centímetros) y para la sustancia a analizar (hasta los 6 centímetros).

- Una vez localizado el centro en el papel filtro, se lo perfora con la ayuda de un sacabocado de 2 milímetros de diámetro.
- Con la ayuda de las agujas de jeringas, se marcan las distancias con pequeñas perforaciones a los 4 y a los 6 centímetros, que fueron señalados anteriormente. Estas distancias son los límites hasta donde deben llegar la solución de nitrato de plata y la solución del suelo con el hidróxido de sodio.



Señalización de los límites de recorrido.



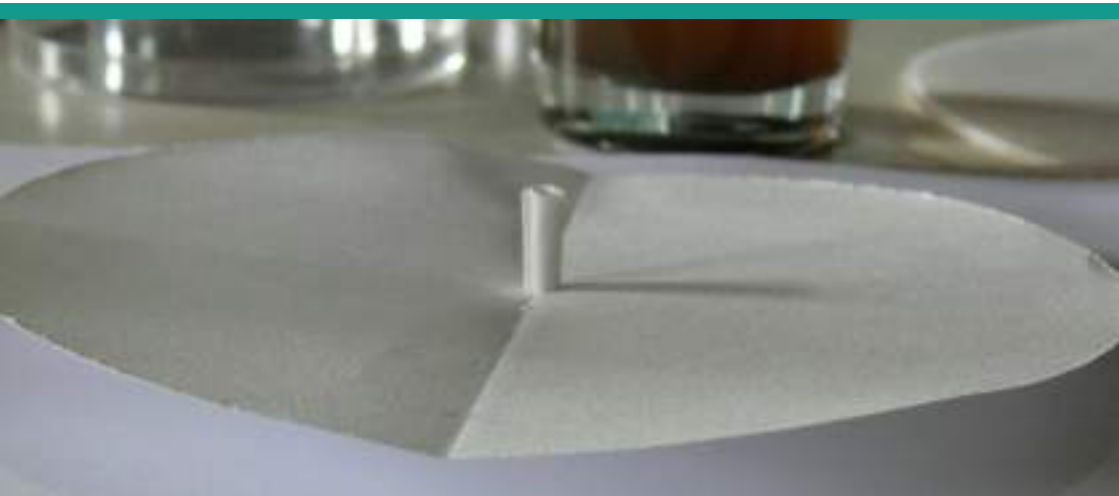
Preparación de matrices de papel filtro para marcación de límites de recorridos.

Para preparar una matriz de hoja de papel filtro para analizar los bioles, se siguen estos pasos:

- El procedimiento es igual al de la anterior matriz. Se prepara una hoja de filtro; se dobla en 4 partes; se mide desde el centro 1 centímetro, 4 centímetros y 6 centímetros.
- Se perfora con el sacabocado en el centro de la hoja, y las medidas se marcan con una aguja de jeringa con pequeñas perforaciones.
- La solución de biol alcanza el papel hasta la marca de 1 centímetro. La solución de nitrato de plata hasta los 4 centímetros.
- Por último, el hidróxido de sodio hasta los 6 centímetros. Más adelante se explicará de manera detallada.

g) Impregnación del papel filtro con la solución de nitrato de plata

- Para esta actividad, se necesita elaborar unos sorbetes con el mismo papel filtro. Para eso, se corta un cuadrado de 2 por 2 centímetros y se elabora el sorbete, enrollando el pedazo de papel cuadrado en la aguja de jeringuilla.



Vista del papel filtro con el sorbete; listo para el recorrido de las soluciones.

- Se necesitan dos recipientes circulares (cajas de Petri desechables): uno grande de 10 centímetros y uno pequeño de 4 centímetros. Se coloca el recipiente de menor diámetro dentro del recipiente de mayor diámetro. Con la ayuda de las jeringuillas, se vierte la solución de nitrato de plata en el recipiente más pequeño. Si no tiene las cajas Petri, puede utilizar otros recipientes; por ejemplo, un plato como recipiente grande y una tapa de alguna bebida, para reemplazar el recipiente pequeño.

- Para la impregnación, se introduce el sorbete en el agujero realizado previamente en el centro del papel. Se asienta el papel con el sorbete sobre el recipiente que contiene el nitrato de plata. Se coloca la hoja de filtro en el medio, con el sorbete hacia abajo, para que absorba el nitrato de plata. Cuando alcanza el límite de los 4 centímetros, se retira el papel filtro. Hay que asegurar el papel cogiéndolo por los bordes.
- Luego, se retira el sorbete por abajo, para evitar que caigan gotas de nitrato de plata sobre el papel que ya fue impregnado. Si se mancha el papel o se repinta, se invalida el proceso de impregnado.

Sorbete colocado en el centro del papel filtro listo para el proceso de impregnación y con marcas que limitan el recorrido de las soluciones.





Colocación de papeles sensibilizados con nitrato de plata en cámara de secado (cajón cerrado).

- Se deja reposar la hoja impregnada con nitrato de plata en un lugar oscuro. Puede utilizarse un cajón de madera que impida el ingreso de la luz. Se debe colocar la hoja impregnada en medio de dos hojas de papel toalla, papel higiénico o papel secante, y de dos hojas blancas de papel tamaño oficio, en forma de sánduche. Esto se hace para facilitar el secado y evitar que se manchen con las otras hojas que se colocan en la misma cámara.
- Los papeles filtro impregnados con nitrato de plata permanecerán en la cámara de secado entre 3 y 4 horas. Pueden quedarse hasta un máximo de 12 horas. Pasado ese tiempo, las hojas cambian de color, por efecto de la luz y ya no sirven.
- Una vez realizado el impregnado, se debe recoger los residuos del nitrato de plata que sobraron en las cajas Petri, y guardarlos en el frasco oscuro que contenía la solución.
- También hay que lavar con agua destilada las cajas Petri para evitar la contaminación. Cualquier contacto de los filtros con los dedos mojados con nitrato de plata, los volverá inservibles.

h) Análisis de suelo.

Corrida final de la muestra

- Una vez concluido el tiempo de secado del papel impregnado con la solución de nitrato de plata, los filtros están listos para realizar el corrido de la muestra de suelo.
- Se disponen las cajas Petri, tal como se hizo para impregnar la solución del nitrato de plata. En la caja pequeña, que está colocada dentro de la caja grande, se coloca la solución del suelo con el hidróxido de sodio, que se preparó previamente, y se mantuvo en reposo durante 6 horas.
- Con la ayuda de las jeringas, sacamos una cantidad de entre 10 y 15 centímetros cúbicos de la solución del suelo que se encuentra en los frascos de vidrio. Se extrae de la parte superior de la mezcla.
- Hay que tener precaución y no agitar esta mezcla de suelo. Se trabaja solamente con la parte superficial de la solución (lo sobrenadante),¹⁸ pues de lo contrario los poros del papel filtro se taponan y la corrida o análisis del cromatograma no se puede realizar con éxito.

¹⁸ Sobrenadante es la parte superior clara de cualquier mezcla.

- Una vez colocada la mezcla de suelo en la caja Petri, se cogen, con extremo cuidado, únicamente por los bordes, las hojas de papel filtro impregnadas con la solución de nitrato de plata. Se coloca en el agujero del medio un sorbete nuevo, y se acomoda la hoja sobre la caja de Petri que contiene la solución del suelo.



Solución de suelo lista para continuar en la impregnación del papel previamente sensibilizado con nitrato de plata.

- Se deja el papel filtro hasta que haya recorrido el límite de los 6 centímetros. La solución debe pasar 2 centímetros más allá de los 4 centímetros que se encuentran impregnados de nitrato de plata.
- Una vez alcanzados los 6 centímetros, se retira el sorbete por abajo del filtro. El material está listo para la fase de revelado.
- Para el caso de los bioles, hay que colocar la hoja de filtro impregnada con nitrato de plata sobre las cajas Petri que contienen la solución pura de los bioles; se la hace correr hasta 1 centímetro, con la ayuda del sorbete.

- Se deja secar por un momento, hasta preparar y colocar en las cajas Petri la solución de hidróxido de sodio al 1%.
- Sobre esta solución, se coloca la hoja de filtro que ya corrió en la solución de biol puro. Con la ayuda del sorbete, se consigue que la hoja de filtro se impregne de hidróxido de sodio hasta los 6 centímetros marcados. Una vez que ha llegado a ese límite, hay que retirar y dejar secar para que se produzca el revelado.

i) Secado o revelado

- Una vez terminada la fase de recorrido de la solución del suelo en el papel filtro, empieza el proceso de secado de los cromatogramas. Con mucho cuidado, se los deja reposar de manera horizontal en una superficie plana y limpia, sobre hojas de papel blanco de oficina, para que se sequen por un aproximado de 3 horas. Se debe trabajar en una sala semioscura u oscura, con luz tenue.

Cromatogramas listos para exposición gradual a la luz.



- Luego, se sacan los cromatogramas a un lugar ventilado para continuar con su secado a la sombra. De esta forma, se los va exponiendo gradualmente a la luz solar, para conseguir que el revelado se estabilice. Una ventana orientada al oeste (por donde se oculta el sol) es una buena opción de lugar de revelado, ya que gradualmente la luz irá ganando intensidad a lo largo de todo el día. Dos días después de haber colocado en este lugar, se fijarán los colores y el cromatograma estará listo.

Exposición gradual de cromatogramas a la luz.





Revelado de cromatogramas.

- Es importante recordar e identificar cada cromatograma con el nombre, tipo de muestra, cultivo, fecha y lugar. Esta información puede ser escrita con un lápiz, en el borde del papel filtro.
- Lo anterior se realiza con la finalidad de alistar a los cromatogramas para recubrirlos con una delgada capa de parafina. De esa manera, podrán conservarse por mayor tiempo. En una sartén caliente, se diluye



Cromatogramas en fase de revelado.



Baño de parafina para conservación de cromatogramas.

la parafina sólida; durante unos segundos se introducen los cromatogramas en la parafina diluida; luego se los saca, se escurre el exceso de parafina y se los deja secar por unos minutos. Los cromatogramas quedan listos para ser guardados y conservados. A pesar de estar cubiertos con parafina, es conveniente guardar los cromatogramas en un lugar propicio como una carpeta, sobre o album para que no sufra dobleces o entre en contacto con humedad o luz directa.

- Cuando las muestras estén listas, se realiza la interpretación.

9. Cromatogramas y su interpretación

Se presentan a continuación dos muestras de cromatogramas de los más de 16 que se realizaron en el taller, como ejemplos para la interpretación:



Patricio Salas

Patricio Salas. Cotopaxi. Muestra de suelo del páramo de Maca, 3650 msnm, en Pujilí. Páramo recuperado de uso de químicos y sobrepastoreo.

Trabajo de 15 años en la recuperación y la conservación de suelos. Muestra con alta presencia de materia orgánica. Por las condiciones de frío, existe una descomposición lenta y una limitada presencia de microbiología. A pesar de las limitaciones, existen procesos de humificación. Estos suelos han sido recuperados de la desertificación y presentan condiciones que aportan a la conservación del páramo a través de la regeneración de coberturas nativas y aplicación de biofermentos de alpaca. Actualmente los suelos son destinados al pastoreo de alpacas.

José Valentín. Chimborazo. Muestra de suelo de Chismaute. Suelo de cultivo de mashua manejado con rotación de cultivos entre papas, habas, hortalizas.

Muestra con un alto contenido de materia orgánica, José indica que usa abono que contiene excremento de animales (ovino y cuyes), paja y malas hierbas, además incorpora la ceniza del fogón. Se recomienda la incorporación de materiales que aporten mayor energía para potencializar la acción de la microbiología y así generar mayor cantidad de humus en el suelo para aprovechamiento de los cultivos allí presentes.



José Valentín

¡Solo la **vida** puede generar **vida** para la **vida**!

Francisco Abad



Alba Colcha



Armando Berrú



Carlos Amaguaña



Isabel Toapanta



Miguel Andrade



Bernardo Guzñay



María del Carmen Paucar



Esteban Cachipud



Florencio Castillo



Maruja Morocho

10. Bibliografía

- Abad, F. (2014). Evaluación cualitativa mediante cromatografía, de la fertilidad de cinco suelos con diferentes manejos orgánicos y convencionales. Tesis de pregrado, Universidad de Cuenca. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/19977>
- Altieri, M. (2009). La agricultura moderna: impactos ecológicos y la posibilidad de una verdadera agricultura sustentable. Recuperado de: <http://213.0.56.171/fileadmin/areas/medioambiente/ae/IOAgriculturaModerna.pdf>
- Atlas, R. y Bartha, R. (2006). Ecología microbiana y microbiología ambiental. (Cuarta ed.) (pp. 97-106). Madrid: Pearson Educación, S.A.
- Bakker, A. y Bakker, J. (2008). Cromatografía, imágenes de energía. Holanda: Borger.
- Benzing, A. (2001). Agricultura orgánica - fundamentos para la región andina. (Primera ed.) Villinge-Schwenningern. Alemania: Neckar-Verlag.
- Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo (2010). Indicadores biológicos para la evaluación de la calidad de los suelos. (Doceava ed.) (p. 14). Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador.
- Coyne, M. (2000). Microbiología del suelo: un enfo-

- que exploratorio. (Primera ed.). Madrid: Editorial Paraninfo.
- Forero, R. (2009). Ecosistemas, Agricultura Ecológica u Orgánica y Visión de Colombia Global Tropical. Colombia: Agencia de Cooperación IICA.
- Gras, E. (2012). Cosecha de agua y tierra. (Segunda ed.) (p. 24). Teruel: EcoHabitar Visiones Sostenibles S.L.
- Hensel, J. y Restrepo, J. (2004). Manual práctico de agricultura orgánica y panes de piedra. (Primera ed.). Cali: Feriva S.A.
- Pinheiro, S. (2011). Cartilha da saúde do solo e inocuidade dos alimentos. Rio Grande do Sul: Jaquira Canduri Satyagraha.
- Primavesi, A. (1982). Manejo ecológico de suelos. (Quinta ed.) (pp. 73-74). Sao Paulo: El Ateneo.
- Restrepo, J. (2007). El A, B, C de la agricultura orgánica, y harina de rocas. (Primera ed.) (pp. 34-36). Managua: Simas.
- Restrepo, J. y Pinheiro, S. (2009). Agricultura orgánica harina de rocas y la salud del suelo al alcance de todos. (Primera ed.). Cali: Feriva S.A.
- Restrepo, J. y Pinheiro, S. (2011). Cromatografía imagen de vida y destrucción del suelo. (Primera ed.). Cali: Feriva S.A.
- Simón, J. (2013). Manual de microbiología y remineralización de suelos en manos campesinas. (Primera ed.). n.d: n.d.



Heifer Ecuador



José Luis Tamayo N24-587 y Salazar
(593 2) 250 1427 / 290 8985
fundacionheifer@heifer-ecuador.org

 www.heifer-ecuador.org

 Heifer Ecuador

 @HeiferEcuador

ISBN 978-9942-8551-5-2



9 789942 855152