



Carbono orgánico en suelos del Eje Cafetero: evaluación mediante calcinación controlada de fracciones granulométricas a diferentes temperaturas

Organic Carbon in Soils of the Coffee Region: Evaluation by Controlled Calcination of Granulometric Fractions at Different Temperatures

J. Alexis Henao-Campiño^{1, 2*}

L. Adriana Lince-Salazar²



DOI: 10.19053/uptc.01228420.v22.n1.2025.18894

RESUMEN: El carbono orgánico del suelo (COS) es la fracción de carbono contenida en la materia orgánica del suelo (MOS) y constituye la métrica más utilizada para cuantificación. Este estudio evaluó un método de fraccionamiento físico para separar clases de tamaño de partículas del suelo y determinar la distribución del COS entre ellas. El enfoque distingue la materia orgánica más lábil, asociada con partículas gruesas, de las fracciones más estables, vinculadas con partículas finas y superficies minerales. La cuantificación de estas fracciones es importante, ya que cumplen funciones diferentes en la salud del suelo y en el secuestro de carbono. Se evaluaron cuatro Andisoles. El contenido de COS se determinó tras la separación granulométrica mediante tamices con las diferentes aberturas: 2; 1; 0,5; 0,25; 0,106 y 0,045 mm. Este procedimiento se complementó con calcinaciones a dos temperaturas (300 y 360 °C) y una comparación entre la calcinación a 360 °C y el método de oxidación de Walkley–Black para la determinación de COS. Se observaron diferencias significativas entre las temperaturas de calcinación, siendo 360 °C la que proporcionó estimaciones más consistentes del COS. El análisis comparativo entre la calcinación a 360°C y el método de Walkley–Black no mostró diferencias significativas entre las fracciones analizadas. En tres muestras, la presencia de raíces finas no afectó el contenido de COS. Estos resultados son relevantes para la optimización de métodos analíticos de fraccionamiento de COS y contribuyen a una mejor comprensión de la dinámica de la materia orgánica del suelo.

PALABRAS CLAVE: Andisoles, fracciones del carbono, materia orgánica, método de Walkley–Black, distribución del tamaño de partículas.

ABSTRACT: Soil organic carbon (SOC) is the fraction of carbon contained in soil organic matter (SOM) and is the most commonly used metric for quantifying SOM. This study evaluated a physical fractionation method to separate soil particle-size classes and to determine the distribution of SOC among them. The approach distinguishes more labile organic matter, associated with coarse particles, from more stable fractions associated with fine particles and mineral surfaces. Quantification of these fractions is important because they play different roles in soil health and carbon sequestration. Four Andisols were studied. SOC content was determined after granulometric separation using sieves with the following aperture size: 2, 1, 0.5, 0.25, 0.106, and 0.045 mm. This procedure was complemented by calcination at two temperatures (300 and 360 °C) and by a comparison between calcination at 360 °C and the Walkley–Black oxidation method for SOC determination. Significant differences were observed between calcination temperatures, with 360 °C providing more consistent SOC estimates. Comparative analysis between calcination at 360 °C and Walkley–Black method showed no significant differences among the analyzed fractions. In three samples, the presence of fine roots did not affect SOC content. These results are relevant for optimizing analytical methods for SOC fractionation and contribute to a better understanding of soil organic matter dynamics.

KEY WORDS: Andisol, carbon fractions, organic matter, Walkley–Black method, particle-size distribution.

FECHA DE RADICACIÓN: 07 de febrero de 2025 **FECHA DE ACEPTACIÓN:** 29 de mayo de 2025 **FECHA DE PUBLICACIÓN:** 31 de junio de 2025

1 Universidad de Caldas , Programa de Biología, Manizales, Colombia

2 Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Cenicafé) , Disciplina de suelos, Manizales, Colombia

* Autor de correspondencia: jhon.henao@cafedecolombia.com

INTRODUCCIÓN

El carbono orgánico del suelo (COS) constituye la fracción cuantificable de la materia orgánica del suelo (MOS) y es ampliamente utilizado como indicador de la salud y la calidad del suelo (FAO, 2017). Desempeña un papel fundamental en la regulación de los ciclos biogeoquímicos (Ondrasek *et al.*, 2019), la fertilidad y el almacenamiento de carbono atmosférico (Lal, 2016). Asimismo, contribuye de manera directa a la retención de agua al mejorar la estructura y porosidad del suelo, e indirectamente al favorecer la formación de agregados estables que incrementan la infiltración y el almacenamiento hídrico (Hudson, 1994; Bot & Benites, 2005; Lal, 2016). De esta forma, el COS influye de manera decisiva en la capacidad de los suelos para sustentar la producción agrícola.

El carbono es incorporado al suelo a través de la fauna edáfica y se deposita en forma de material orgánico muerto, principalmente proveniente de residuos vegetales y exudados. Estos organismos, en vida, captaron CO₂ atmosférico y lo transformaron en carbono orgánico, integrándolo a sus estructuras, lo cual representa entre el 55 y 60 % de la materia orgánica del suelo (FAO, 2017). El proceso de transformación de dicho material se da como resultado de una mezcla biogeoquímica compleja de diferentes moléculas de origen biológico, las cuales pueden encontrarse en distintas etapas de oxidación, desde compuestos fácilmente degradables hasta formas más estables (García, 2008). La conservación de estas últimas es fundamental, ya que representan las fracciones de carbono orgánico que permanecen en el suelo por mayor tiempo y contribuyen al almacenamiento de carbono y a la calidad del suelo (Schmidt *et al.*, 2011), por lo cual, en la práctica de laboratorio, se cuantifica el COS y, a partir de este valor, se estima la cantidad de materia orgánica del suelo MOS, aplicando un factor de conversión (Nelson & Sommers, 1996; Pribyl, 2010)."

El aumento de las reservas de COS se considera una estrategia de beneficio ambiental y económico, debido a que, no solo contribuye a la mejora de la salud del suelo y la productividad agrícola (Carvajal-Agudelo & Andrade, 2020), sino que también permite la transferencia de CO₂ desde la atmósfera al suelo (Lal, 2004), ayudando a mitigar el cambio climático (FAO, 2017; Fawzy *et al.*, 2020) y mantener la calidad ambiental (Ogle & Paustian, 2005).

La cuantificación precisa del COS continúa siendo un desafío (FAO, 2017) debido a la complejidad de la matriz del suelo y a las limitaciones inherentes de los métodos analíticos convencionales. Si bien existen procedimientos ampliamente utilizados, como la oxidación húmeda de Walkley-Black o la calcinación, ambos presentan desventajas que pueden conducir a subestimaciones o sobrestimaciones del contenido real de carbono (Nelson & Sommers, 1996; Pribyl, 2010). En contextos locales, esta dificultad es particularmente relevante en los suelos derivados de cenizas volcánicas del eje cafetero

colombiano, gran parte clasificados como Andisoles, los cuales presentan alta variabilidad mineralógica y una fuerte interacción entre la materia orgánica y las fracciones minerales. Estas características, propias de los suelos volcánicos, pueden conducir a sobreestimaciones o subestimaciones del COS (Nanzyo *et al.*, 1993), lo que resalta la necesidad de evaluar y adaptar métodos analíticos que permitan obtener mediciones más precisas en estos ecosistemas productivos.

El desarrollo y la optimización de técnicas que permitan caracterizar el COS (Paz *et al.*, 2016) en diferentes fracciones del suelo son esenciales para mejorar la comprensión de su dinámica y su papel en los ecosistemas terrestres. Existen variedad de metodologías para el fraccionamiento del COS (Irizar *et al.*, 2010), donde se exponen diferentes procedimientos químicos realizados (Grewal *et al.*, 1991; Feller & Beare, 1997; Schnitzer, 1999) e isotópicos (Balesdent *et al.*, 1988; Andriulo *et al.*, 1999). También existen diferentes metodologías de fraccionamiento físicos (Cambardella & Elliott, 1992; Cotrufo *et al.*, 2019; Leuthold *et al.*, 2024).

Dada la complejidad de la materia orgánica del suelo, existe un acuerdo generalizado en que esta debe ser abordada por fracciones que tengan dinámicas contrastantes, como lo son la materia orgánica asociada y la particulada (Lavallee *et al.*, 2020). La particulada se compone en gran medida de fragmentos livianos que están relativamente sin descomponer, mientras que la asociada consiste en moléculas individuales o fragmentos microscópicos de material orgánico que se ha lixiviado directamente del material vegetal o ha sido transformado químicamente por la biota del suelo y además está protegido de la descomposición a través de la asociación con las superficies de minerales del suelo y contenido dentro de microporos o agregados pequeños (<50–63 μm) (Kögel-Knabner *et al.*, 2008); además la asociada tiene una densidad mayor que 1,6 g/cm^3 (Lavallee *et al.*, 2020).

Las tasas de renovación entre la fracción particulada y la asociada a minerales son muy diferentes. En la fracción particulada, el carbono suele presentar tiempos de rotación cortos, que van de algunos meses a pocos años (1-10 años), de acuerdo a Christensen, 2001 y Trumbore, 2009. En contraste, en la fracción asociada a minerales los tiempos pueden extenderse de décadas a siglos, e incluso milenios en ciertos suelos (Von Lützow *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2011). Para algunos autores, el tiempo de permanencia es el factor determinante en la estabilidad de estas fracciones, mientras que para otros lo son las interacciones entre sustratos, microbiota, temperatura, textura y humedad, sin que prime exclusivamente el tiempo (Kleber *et al.*, 2011). En este sentido, ambas fracciones pueden llegar a mostrar tiempos de rotación equivalentes bajo determinadas condiciones medioambientales (Heckman *et al.*, 2022). Además, es importante señalar que el uso de términos como “materia orgánica estabilizada con minerales” como sinónimo de “materia orgánica asociada a minerales” puede inducir a error, dado que la asociación

con minerales no garantiza necesariamente una persistencia a largo plazo (Keiluweit *et al.*, 2015).

En los suelos minerales, que son el tipo de suelos predominantes en la zona cafetera colombiana, cada una de las fracciones juega un papel diferente. La asociada tiene una relación C: N más baja que la particulada y, por lo tanto, una mayor densidad de nutrientes, que contiene compuestos más simples que son más asimilables para plantas y microorganismos (Williams *et al.*, 2018), lo que implica una mayor demanda de nitrógeno (Cotrufo *et al.*, 2019). No obstante, esta fracción puede saturarse debido a la capacidad finita de sorción de la matriz mineral. En contraste, la fracción particulada no está limitada por un umbral de saturación mineral y puede seguir incorporando carbono en la medida en que existan aportes de residuos orgánicos; sin embargo, este carbono es más susceptible a la descomposición y, por tanto, no representa un almacenamiento permanente (Lavalley *et al.*, 2020).

Los métodos por fraccionamiento físico, son simples, rápidos, sensibles (Galantini, 2008) y menos destructivos como lo pueden ser los métodos de fraccionamiento químicos (Galantini, 2018). En este contexto, el fraccionamiento físico de la materia orgánica y los métodos de calcinación representan herramientas prometedoras para estudiar la distribución del COS. Sin embargo, su eficacia en condiciones específicas, como las de los suelos de Colombia, requiere ser evaluada de manera sistemática, como lo propone la FAO (2017), además de los niveles de seguimiento de GEI propuestos por la IPCC en el 2006.

Entre las técnicas utilizadas para fraccionar la materia orgánica del suelo se encuentran los métodos de separación por densidad y la separación de agregados por tamaño y estabilidad en agua, que permiten diferenciar con mayor claridad la materia orgánica particulada (POM) de la asociada a minerales (MAOM). Por su parte, la separación granulométrica mediante tamices corresponde a un método físico alternativo que resulta útil para analizar la distribución del COS en fracciones de distinto tamaño (Lawrence *et al.*, 2020). También se han desarrollado enfoques basados en ultrasonido para facilitar la dispersión de agregados y liberar fracciones orgánicas, aunque su aplicación aún es limitada y existen pocos trabajos publicados con esta metodología (Paz *et al.*, 2022). De todas las alternativas, la más común en la literatura científica sigue siendo la diferencia de densidades, como se observa en los estudios de Kleber *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2018; Haddix *et al.*, 2020; Wittgall *et al.*, 2021; Georgiou *et al.*, 2022; Heckman *et al.*, 2022.

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo realizar fraccionamiento físico del COS y pruebas de calcinación en suelos volcánicos de dos departamentos cafeteros de Colombia, con el propósito de evaluar la eficacia de este método en la determinación del contenido de COS.

METODOLOGÍA

Zona de muestreo

La toma de las muestras se realizó en la estación experimental Paraguaicito, localizada en el municipio de Buenavista (Quindío) y en la estación central Naranjal en el municipio de Chinchiná (Caldas). Ubicaciones, características del suelo y condiciones climáticas descritas en la Tabla 1. Los análisis correspondientes se realizaron en los laboratorios de Cenicafé, ubicado en el km 4 vía Chinchiná - Manizales, Caldas - Colombia. Los suelos 1 y 2 correspondieron a la estación de Naranjal, mientras que los suelos 3 y 4 se recolectaron en la estación de Paraguaicito.

TABLA 1. Ubicación geográfica, condiciones climáticas y características de los suelos estudiados.

| Parámetro | EE Paraguaicito | EE Naranjal |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Municipio | Buenavista | Chinchiná |
| Longitud Oeste | 04° 23' | 04° 59' |
| Latitud Norte | 75°44' | 75° 39' |
| Altitud (m) | 1.203 | 1.381 |
| Temperatura (°C) | 21,9 | 21,3 |
| Lluvia (mm año ⁻¹) | 2.149 | 2.711 |
| Humedad relativa | 77,0 | 73,1 |
| Ecotopo | 211A | 206A |
| PH | 4,35 | 4,8 |
| MO (%) | 8,2 | 12,6 |
| Arena (%) | 65,15 | 54,13 |
| Arcilla (%) | 18,99 | 22,74 |
| Limo (%) | 15,85 | 23,14 |
| Textura | FA | FAR |
| Orden | Andisol | Andisol |
| Subgrupo | Typic Melanudands | Typic Dystrandeps |
| Unidad | Quindío | Chinchiná |
| Unidad cartográfica | Consociación | Consociación |

Fuente: Riaño *et al.*, 2005; Farfán & Urrego, 2007; Leal *et al.*, 2008.

Procesamiento de los suelos

Las muestras de suelo se recolectaron utilizando cilindros de 30 cm de longitud y 5 cm de diámetro. En cada estación experimental se seleccionaron dos lotes, de los cuales se extrajeron cuatro cilindros por lote, obteniendo un total de ocho muestras por estación. Posteriormente, las muestras fueron empacadas en bolsas plásticas para su transporte al laboratorio, procurando evitar pérdidas, tanto en la parte superior como en la base de los cilindros.

Pruebas de calcinación

Para las pruebas de calcinación se siguieron las metodologías descritas por S *et al.* (1996), Martínez *et al.* (2017), Bautista & Hernández (2021) y Ruiz-Da-ger *et al.* (2023).

La calcinación de la materia orgánica del suelo se basa en la oxidación térmica del carbono orgánico, que se libera en forma de CO₂ a determinadas temperaturas, lo cual permite estimar su contenido. En este estudio se seleccionaron dos temperaturas: 300 °C, considerada suficiente para oxidar la fracción más lábil de la materia orgánica con mínima afectación de los minerales del suelo (Schulte & Hopkins, 1996) y 360 °C, que permite una oxidación más completa sin llegar a los 400 °C (Howard *et al.*, 1998), umbral en el que pueden iniciarse transformaciones minerales (descomposición de carbonatos y arcillas) que conducen a sobreestimaciones del COS (Kononova, 1966). De esta forma, la comparación entre ambas temperaturas permite identificar el rango más adecuado para la determinación del carbono orgánico del suelo mediante calcinación.

Fraccionamiento por tamaños de partícula

El método de fraccionamiento por tamaños empleado en este estudio fue adaptado de la metodología descrita por Leuthold *et al.* (2023, 2024), la cual, a su vez, fue previamente adaptada de la metodología empleada por Cotrufo *et al.* (2019).

Cada suelo se dividió en 10 tratamientos (Tabla 2), con cuatro repeticiones por tratamiento, obteniendo un diseño experimental de 10 tamaño de malla × 4 suelos con 4 repeticiones. Para comparar las fracciones se elaboraron gráficos de cajas y bigotes (Figura 3).

En primer lugar, las muestras colectadas en campo se secaron en una estufa de secado (Fisher S) a 105 °C durante 24 h, con el fin de eliminar completamente la humedad y facilitar el proceso de tamizado. Posteriormente, se pesaron en una balanza analítica (Mettler Toledo MS204S/01). De cada muestra de suelo se tomaron 150 g, de los cuales 75 g se reservaron como

contramuestra y los 75 g restantes se sometieron a tamizado con una serie de tamices de aberturas progresivas de 2 mm, 1 mm, 0,5 mm, 0,25 mm y 0,106 mm, correspondientes a las fracciones de materia orgánica particulada (MOP), adicionalmente, se utilizó un tamiz de 0,045 mm para para obtener la fracción de materia orgánica asociada (MOA). Con base en estas fracciones y en las temperaturas de calcinación propuestas, se establecieron los 10 tamaño de malla (Tabla 2).

Las fracciones obtenidas tras el tamizado se secaron nuevamente en una estufa de convección forzada (Memmert UF 110a) a 105 °C durante 24 h, y luego se colocaron en un desecador para evitar la reabsorción de humedad ambiental. Finalmente, cada fracción se pesó en la balanza analítica (Mettler Toledo MS204S/01) para obtener submuestras equivalentes a 5,00 g. En la Figura 1 se presenta la distribución del peso retenido en los tratamientos 5 a 10, donde se observa una clara diferenciación entre las fracciones.

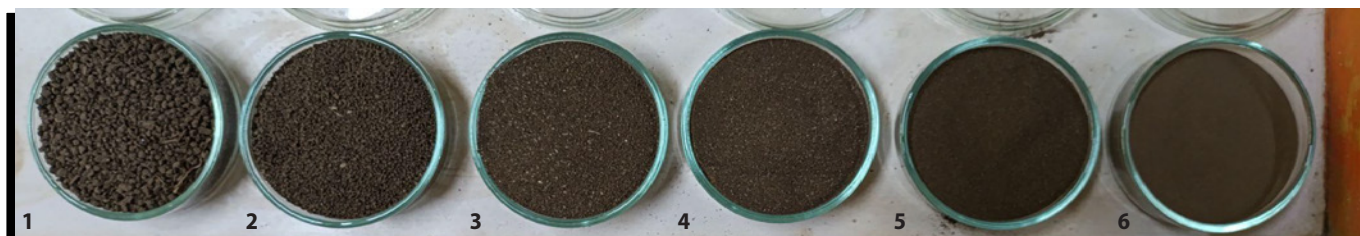


FIGURA 1. Muestras de las diferentes fracciones de suelo analizadas, correspondientes a: 1, < 2 mm > 1 mm; 2, < 1 mm > 0,5 mm); 3, < 0,5 mm > 0,25 mm); 4, < 0,25 mm > 0,106 mm; 5, < 0,106 mm > 0,045 mm; 6, < 0,045 mm.

TABLA 2. Peso tamizado y de peso retenido entre tamices evaluados.

| Ítem | Abertura del tamiz |
|------|-----------------------|
| 1 | < 2 mm |
| 2 | < 1 mm |
| 3 | < 0,5 mm |
| 4 | < 0,25 mm |
| 5 | < 2 mm > 1 mm |
| 6 | < 1 mm > 0,5 mm |
| 7 | < 0,5 mm > 0,25 mm |
| 8 | < 0,25 mm > 0,106 mm |
| 9 | < 0,106 mm > 0,045 mm |
| 10 | < 0,045 mm |

Posteriormente, las muestras fueron sometidas a temperatura de 360 °C durante dos horas en la mufla, una vez finalizado este proceso, nuevamente se colocaron en un desecador.

Finalmente, se pesaron y la materia orgánica contenida en cada una se determinó mediante la diferencia entre los pesos iniciales y finales, utilizando la siguiente fórmula (1) propuesta por Bautista & Hernández (2021).

$$\% \text{ MOS} = \frac{\text{peso a } 105 \text{ } ^\circ\text{C} - \text{peso a } 360 \text{ } ^\circ\text{C}}{\text{peso a } 105 \text{ } ^\circ\text{C}} \times 100 \quad (1)$$

Adicionalmente, el contenido de carbono orgánico se determinó mediante el método de Walkley y Black (1934), siguiendo los lineamientos establecidos en la Norma Técnica Colombiana NTC 5403:2013 (Icontec, 2013). El cálculo del porcentaje de carbono orgánico se realizó aplicando la fórmula 2.

$$\% \text{ C. O} = \frac{(B - M) \times N \times 0,003 \times (100 + pW)}{Wm} \quad (2)$$

Donde, B corresponde al volumen de solución de ferrosulfato (FeSO_4) gastado en el blanco (mL), M al volumen de ferrosulfato consumido en la muestra (mL), N a la normalidad de la solución de ferrosulfato, y 0,003 al factor de conversión equivalente a 0,003 g de C oxidable por cada 1 mL de FeSO_4 1 N consumido. Asimismo, pW representa el porcentaje de humedad de la muestra y Wm el peso de la muestra de suelo (g).

Este método se empleó como referencia para la comparación con los resultados de calcinación.

Comparación de métodos para obtención de COS

Se realizó una comparación entre el método de calcinación y el método de oxidación para la cuantificación de COS. Para ello, se tomaron muestras del suelo 1, las cuales se analizaron tanto por calcinación a 360 °C como por oxidación química mediante el método de Walkley & Black (WB). Este último consiste en la oxidación de la materia orgánica con dicromato de potasio en medio ácido, seguida de una titulación con sulfato ferroso amónico para determinar el contenido de COS en las muestras. Durante el procedimiento se empleó una cabina extractora de gases (CEX 120) y un espectrofotómetro UV (Perkin Elmer Lambda 365). La aplicación de esta metodología permitió establecer un contraste directo con los resultados obtenidos por calcinación.

Asimismo, se generaron gráficos tipo boxplot en RStudio utilizando la librería *ggplot2* (Wickham, 2016), con el fin de visualizar la distribución de los datos y comparar las medianas entre los 10 tratamientos seleccionados en cada suelo.

Aporte de las raíces al COS

Este procedimiento se constituyó de una separación minuciosa de las raíces primarias y secundarias presentes en las muestras, las cuales fueron extraídas cuidadosamente del suelo previamente tamizado. Para la separación de las raíces, se utilizó un método adaptado de la técnica descrita por Nombela & Bello (1983). Posteriormente, las muestras fueron sometidas a calcinación en mufla (Thermolyne 30400 Furnace) a una temperatura de 360 °C con el fin de realizar una comparación entre muestras con raíces y sin raíces siguiendo el siguiente diseño (3 suelos x 2 temperaturas con 3 repeticiones).

Análisis de datos

Todos los datos obtenidos durante el estudio fueron tabulados en Excel. Se realizaron evaluaciones descriptivas y pruebas estadísticas utilizando el software Rstudio. Los resultados fueron representados gráficamente mediante el paquete ggplot2 (Wickham, 2016), permitiendo visualizar la distribución de los datos y la variabilidad de los resultados en función de las fracciones de suelo y las metodologías aplicadas.

Para todos los datos se comprobó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad se evaluó con la prueba de Levene implementada en el paquete car (Fox & Weisberg, 2019). Como tal para los datos del fraccionamiento por tamaños, se llevaron a cabo análisis de varianza (ANOVA) para datos paramétricos, mientras que para los datos no paramétricos se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis a través del paquete FSA (Ogle, 2021). Para la comparación del porcentaje de COS (%CO) obtenidos mediante el método de calcinación y el método Walkley-Black (WB) se realizó una prueba T Student (William, 1908), para muestras independientes. Adicionalmente para las pruebas de calcinación con materia orgánica particulada, se realizó un (ANOVA)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas de calcinación

El promedio de % COS en partículas < 2 mm a 300 °C fue de $2,739 \pm 0,033$ y a 360 °C de $3,807 \pm 0,057$ (Figura 2A), en partículas <0,045 mm a 300 °C de $6,686 \pm 0,060$ y a 360 °C fue $9,374 \pm 0,076$ (Figura 2B). En particular, la temperatura de 360°C resultó ser mejor para la determinación de COS mediante el método de calcinación, en comparación con 300 °C esto evidenciado por el análisis de oxidación (WB). Además, se observa en la Figura 2 la diferencia de los contenidos de COS en cada una de las temperaturas. De acuerdo con Schulte & Hopkins (1996) y Eyherabide *et al.* (2014), la calcinación a 360 °C

durante 2 horas constituye una alternativa práctica para estimar el contenido de COS, ya que a esta temperatura se logra oxidar la mayor parte de la materia orgánica sin generar una afectación significativa de la matriz mineral. A su vez, Martínez *et al.* (2017) destacó que a 360 °C se minimizan las pérdidas de agua estructural en las arcillas, lo que mejora la precisión del modelo de predicción del COS al incrementar el coeficiente de determinación (R^2). No se consideraron temperaturas superiores (450–500 °C), ya que valores por encima de 450 °C pueden afectar la estabilidad de los carbonatos presentes en la muestra lo que generaría una sobreestimación del COS (Schulte & Hopkins, 1996; Rosell *et al.*, 2001). En estos casos, sería necesario aplicar una corrección para contabilizar la pérdida de carbonatos, lo que podría comprometer la exactitud de los resultados (Martínez *et al.*, 2017).

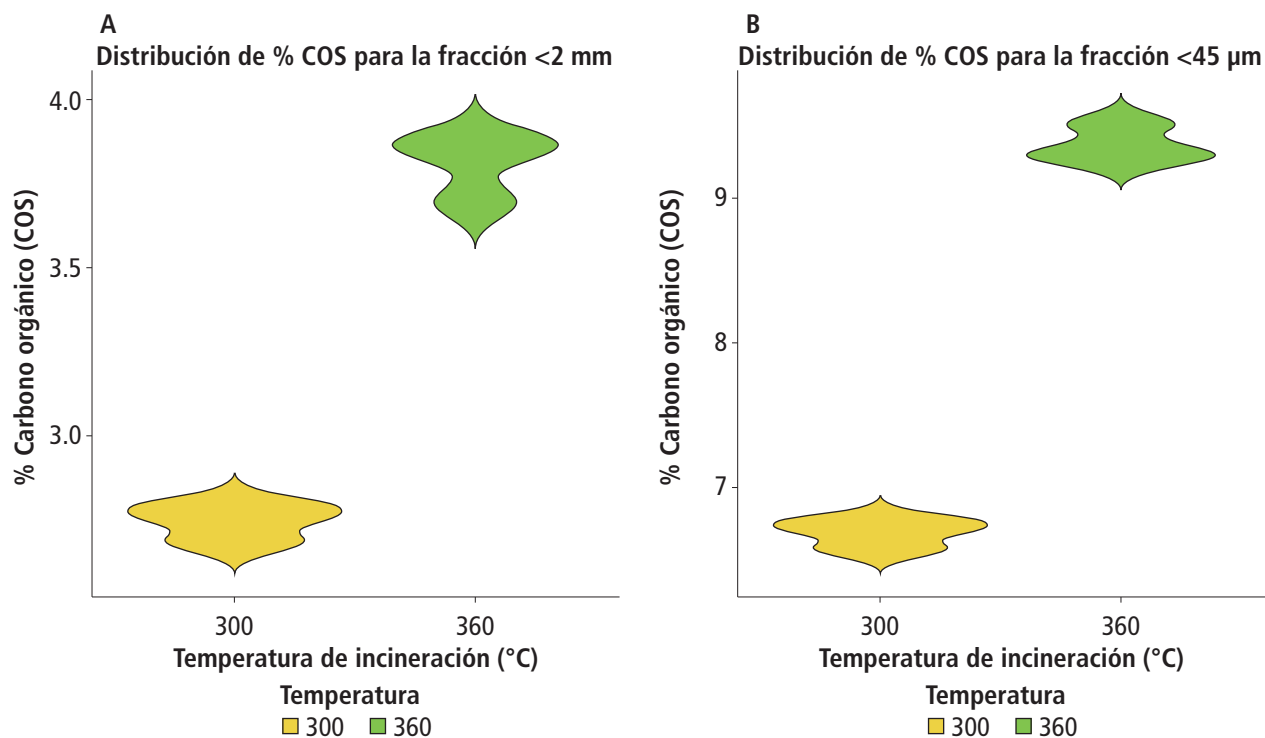


FIGURA 2. Diagrama de violín. Comparación de temperaturas para determinación de carbono orgánico, donde A) comparación el contenido de COS a temperatura de 300 y 360°C para partículas < 2 mm; B) comparación el contenido de COS a temperatura de 300 y 360°C para partículas < 0.045mm.

Fraccionamiento por tamaños de partícula

En total se analizaron 160 muestras correspondientes a las diferentes fracciones de suelo, lo que generó 1.120 registros en todo el proceso de secado, pesado y calcinación. A partir de estos datos se calcularon los promedios de contenido de %COS para cada suelo, obteniéndose los siguientes valores: suelo 1 = 6.728 ± 0.141 ; suelo 2 = 8.968 ± 0.379 ; suelo 3 = 5.032 ± 0.636 ; y suelo 4 = 4.845 ± 0.463 (Figura 3).

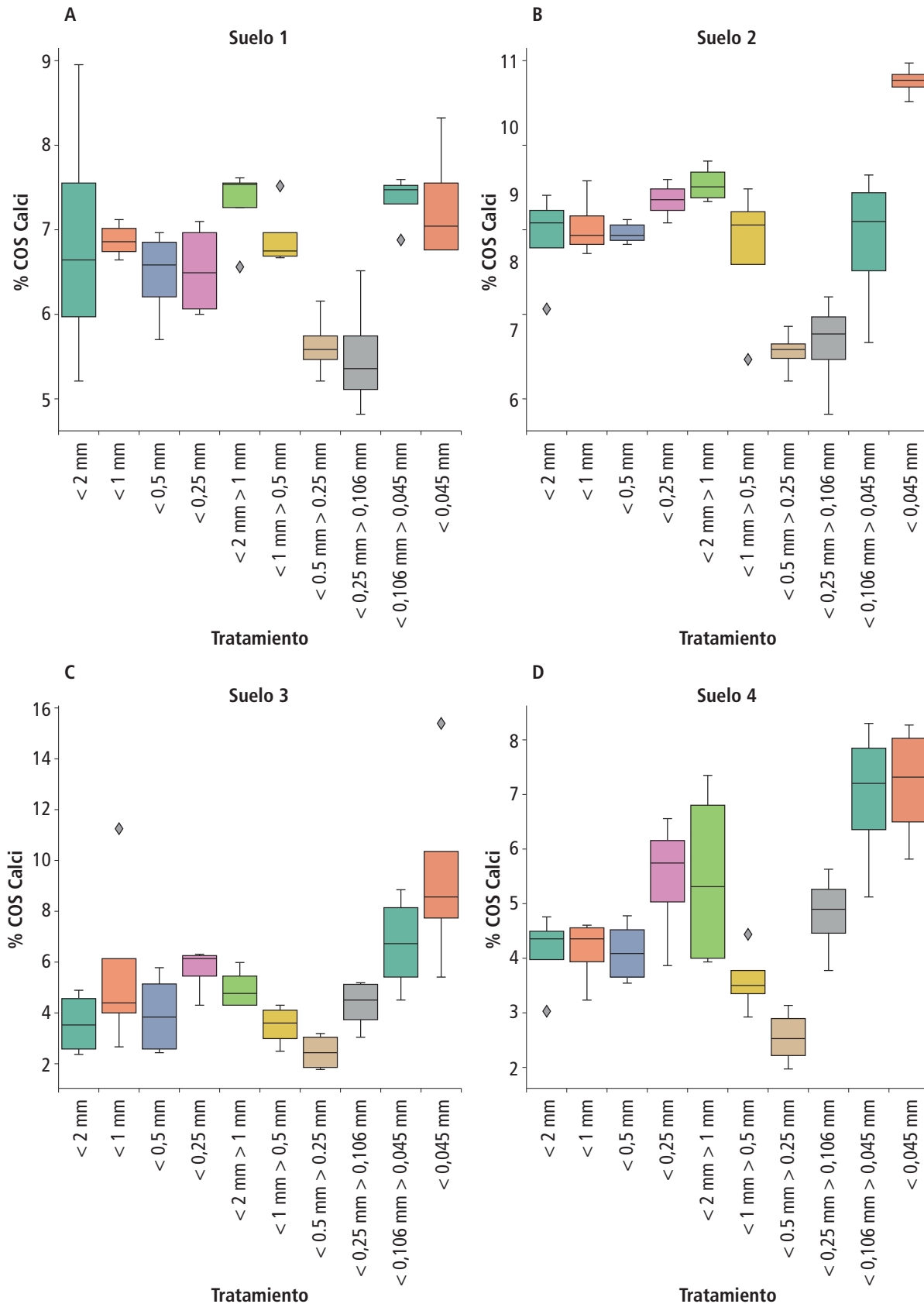


FIGURA 3. Boxplot de carbono orgánico para cada una de los tamaños de partículas analizadas, donde A y B fueron los suelos 1 y 2 de Naranjal; C y D los suelos 3 y 4 de Paraguaicito.

En el análisis estadístico se encontró que los suelos 1, 2 y 4 cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad ($p > 0.05$), mientras que el suelo 3 no los cumplió. En consecuencia, para los suelos 1, 2 y 4 se aplicó un ANOVA de una vía, el cual mostró diferencias significativas en el contenido de COS entre los tratamientos ($p = 0.00454$; $p = 4.84e-08$; $p = 4.39e-06$, respectivamente). Para el suelo 3, la prueba de Kruskal-Wallis también evidenció diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.007875 < 0.05$).

Se observó, además, que bajo la calcinación a 360 °C los tratamientos con partículas más pequeñas ($< 0,045$ mm) presentaron un mayor porcentaje de COS en comparación con tratamientos de partículas más gruesas, como el rango < 1 mm $> 0,5$ mm (Figura 3). De acuerdo con diversos autores, como Mahieu *et al.* (1999) y Ortiz (2022), el COS está estrechamente vinculado a la presencia de partículas finas en el suelo, particularmente arcillas, que favorecen la formación de agregados estables y, por ende, el secuestro de carbono. Asimismo, Rosell *et al.* (2001) señalaron que los suelos con mayor contenido de limo y arcilla tienden a presentar concentraciones más altas de COS, lo que además se corrobora con la tabla 1. Este hallazgo es relevante para futuras investigaciones, ya que la relación entre las partículas finas del suelo y su capacidad para almacenar carbono ha sido ampliamente estudiada (Matus & Maire, 2000)

Comparación de métodos para obtención de COS

El promedio de %COS obtenido considerando los 10 tratamientos del suelo 1 fue de $6.728 \pm 0,141$ por calcinación y de $6.208 \pm 0,212$ por oxidación (Walkley & Black). Los resultados de la comparación de métodos mostraron que los datos cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad ($p > 0,05$). La prueba t de Student indicó un valor de $p = 0,05689$ (Figura 4), el cual, al ser mayor que el nivel de significancia establecido ($\alpha = 0,05$), confirma que no existen diferencias significativas entre los dos métodos evaluados.

Adicionalmente, la representación gráfica evidencia la alta similitud entre los valores obtenidos mediante ambos procedimientos, lo que respalda la efectividad del método de calcinación frente al método de Walkley-Black para la determinación del contenido de COS en los suelos analizados. Estos resultados coinciden con investigaciones previas, que han demostrado que la calcinación constituye una técnica confiable para la cuantificación de la materia orgánica del suelo, al ofrecer valores reproducibles y comparables con los obtenidos mediante métodos de referencia (Nelson & Sommers, 1996; De Vos *et al.*, 2005).

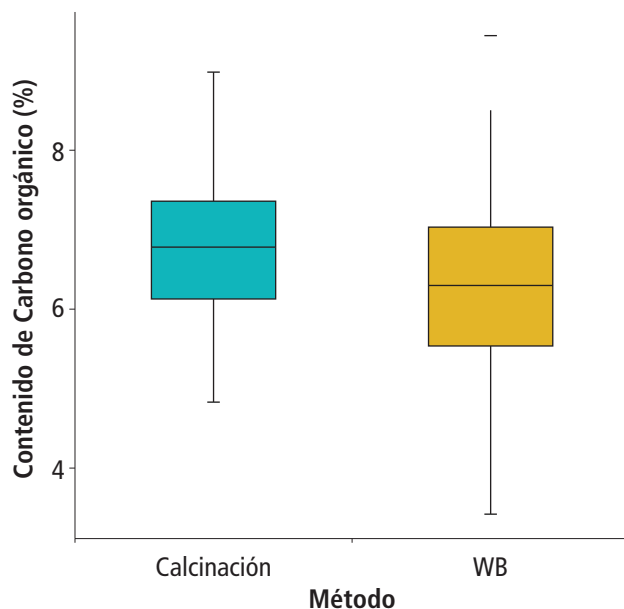


FIGURA 4. Contenido de carbono orgánico (%) entre los métodos de calcinado (360 °C) y Walkley-Black (WB) del suelo 1, Naranjal.

Sin embargo, es importante considerar las ventajas y limitaciones de cada técnica. El método Walkley-Black es ampliamente utilizado debido a su sensibilidad en la detección de COS en suelos con bajos contenidos de materia orgánica (Schumacher, 2002). No obstante, este método emplea dicromato de potasio y ácido sulfúrico, lo que genera residuos tóxicos y representa un riesgo ambiental y para la salud del operador (Nelson & Sommers, 1996). En contraste, el método de calcinación es más seguro y ecológico, ya que solo implica la combustión del material orgánico en una mufla sin necesidad de reactivos peligrosos (Galantini, 2008; De Vos *et al.*, 2005). Dado que no se encontraron diferencias significativas entre ambos métodos, se recomienda optar por aquel que represente menores riesgos en su implementación y que sea más eficiente en términos operativos. En este sentido, el método de calcinación se presenta como una alternativa viable para estudios de COS, especialmente en contextos donde se busca minimizar el uso de productos químicos y reducir costos operacionales. Además de esto, la posibilidad de automatizar los procesos de calcinación en laboratorios especializados podría aumentar la reproducibilidad y la eficiencia de los análisis (Conyers *et al.*, 2011).

Aporte de las raíces al carbono orgánico

En total se analizaron 60 muestras correspondientes a las fracciones de suelo, lo que generó 240 registros durante el proceso de secado, pesado y calcinación. La influencia de la presencia de raíces finas en el contenido de COS se evaluó en tres suelos. En el suelo 1, los promedios fueron de 10.274 ± 0.530 % con raíces y de 12.649 ± 2.735 % sin raíces. En el suelo 2, los valores obtenidos fueron de 7.784 ± 0.377 % con raíces y de 7.610 ± 0.388 % sin raíces. Finalmente, en el suelo 3 se registraron 6.197 ± 0.652 % con raíces y 6.631 ± 0.888 % sin raíces.

En la Figura 5 se observa que no hay diferencias evidentes entre los tratamientos. Para confirmarlo, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), considerando la presencia de un dato atípico en el suelo 1. Los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en ninguno de los tres suelos evaluados ($p = 0,443$). Este hallazgo refuerza la validez del proceso de fraccionamiento, ya que demuestra que la presencia o ausencia de raíces en el tamizado no influye de manera significativa en el contenido de COS, siendo su aporte mínimo en comparación con el carbono intrínseco del suelo.

Asimismo, la comparación entre la calcinación y el método de Walkley-Black (WB) confirmó la ausencia de diferencias estadísticamente significativas, lo que respalda la aplicabilidad de la calcinación como técnica alternativa.

En conjunto, los resultados evidencian que la calcinación de la materia orgánica particulada, combinada con la comparación frente al método WB, constituye una estrategia eficaz para validar el fraccionamiento físico en la determinación del COS. Además, se confirma que las fracciones más finas del suelo concentran mayores porcentajes de COS, y que tanto la calcinación como el método WB ofrecen estimaciones comparables. Estos hallazgos avalan el uso del fraccionamiento físico como una herramienta confiable en el análisis del carbono orgánico del suelo.

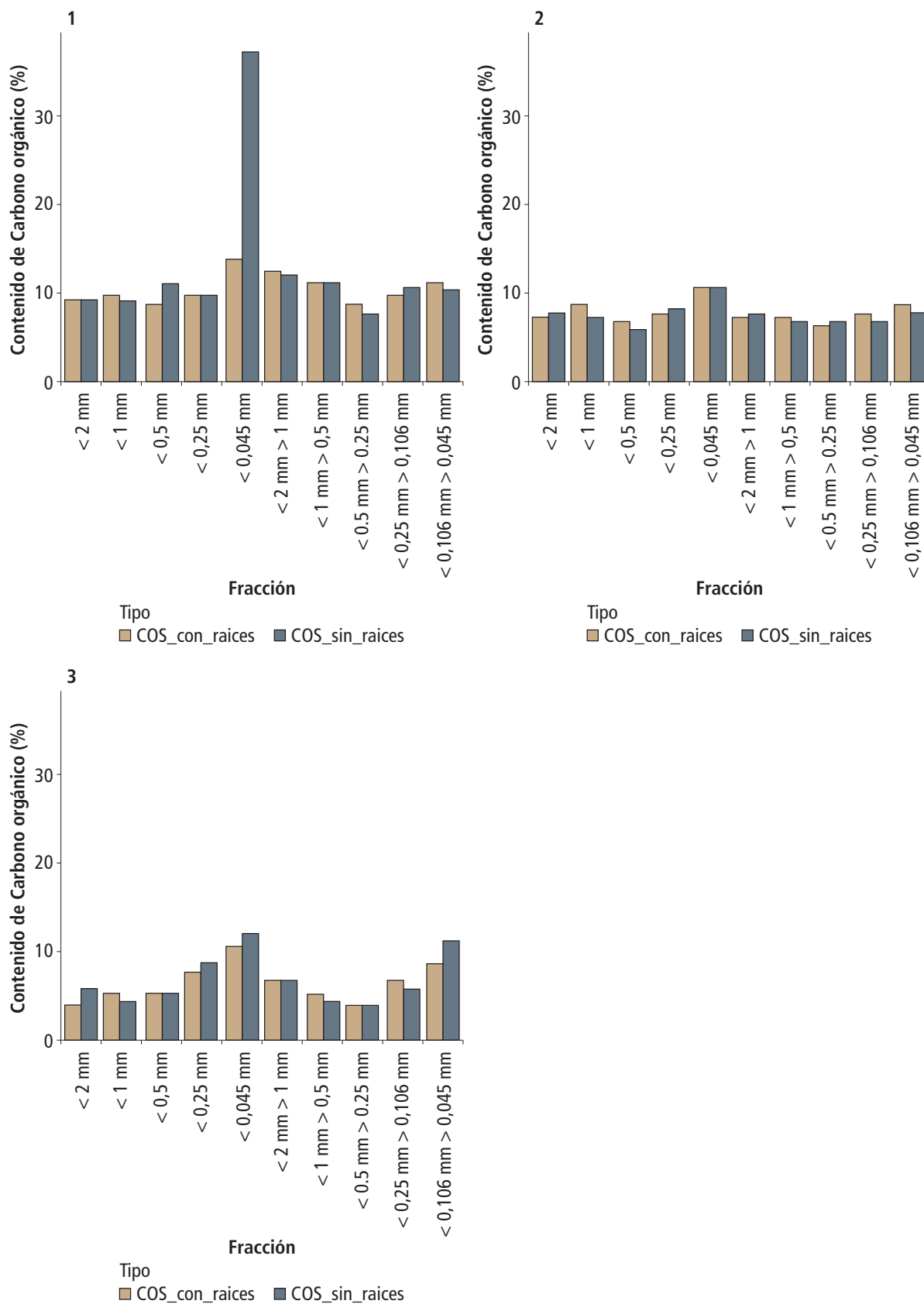


FIGURA 5. Comparación % de CO calcinado de muestras con y sin raíces en 3 suelos, donde (1 y 2) Naranjal; 3 (Paraguaicito).

CONCLUSIONES

El método de fraccionamiento físico ampliamente descrito en la literatura fue validado en este estudio como una herramienta efectiva y confiable para cuantificar el COS en suelos del eje cafetero colombiano, al mostrar resultados consistentes y permitir una evaluación detallada de su distribución en las diferentes fracciones del suelo.

Se evidenció que las partículas más finas, como limos y arcillas (<0,053 mm), contienen un mayor contenido de COS en comparación con las fracciones gruesas, lo que respalda el papel de las partículas pequeñas en la estabilización de la materia orgánica y en la regulación de su dinámica en el suelo.

La comparación entre la calcinación a 360 °C y el método de Walkley-Black no mostró diferencias significativas, lo que sugiere que ambos procedimientos son igualmente válidos para la estimación del COS y brindan flexibilidad metodológica según los recursos disponibles, además valida el uso de la calcinación como alternativa práctica.

En los suelos andisólicos evaluados, formados a partir de cenizas volcánicas y con alta capacidad de retención de materia orgánica, el fraccionamiento físico se consolidó como una herramienta útil para comprender la dinámica del COS. No obstante, la distribución del carbono no fue homogénea en todas las fracciones ni en todos los suelos, lo que resalta la necesidad de interpretar los hallazgos en función de las características propias de cada sitio.

Finalmente, se sugiere que futuras investigaciones amplíen la validación de la calcinación a diferentes órdenes de suelo y la integren con técnicas espectroscópicas avanzadas, como la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) propuesta por Reeves *et al.* (2002), con el fin de fortalecer la precisión y aplicabilidad de los métodos en el estudio del carbono orgánico del suelo.

Agradecimientos

Se expresan agradecimientos a la Universidad de Caldas por su apoyo institucional durante el desarrollo de este estudio. Un agradecimiento especial al Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) por disponer de sus laboratorios y estaciones experimentales, cuya infraestructura y recursos fueron fundamentales para la realización de esta investigación. Su valiosa colaboración y compromiso con el avance científico contribuyeron significativamente al éxito de este trabajo.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés en la realización y publicación de este trabajo.

Contribuciones de autoría

J.A.H.C. y L.A.Lince: Conceptualización, diseño experimental, recolección y procesamiento de muestras, análisis de datos y redacción inicial del manuscrito. J.A.H.C.: revisión crítica, aporte a la discusión y edición final del texto.

Disponibilidad de datos

Los datos generados y analizados durante esta investigación están disponibles bajo solicitud al autor de correspondencia.

Declaración sobre el uso de inteligencia artificial

Los autores declaran que no se utilizó apoyo de herramientas de inteligencia artificial. Todo el contenido científico, interpretación de resultados y conclusiones corresponden exclusivamente a los autores.

REFERENCIAS

- Andriulo, A., Guérif, J., & Mary, B. (1999). Evolution of soil carbon with various cropping sequences on the rolling pampas. Determination of carbon origin using variations in natural ^{13}C abundance. *Agronomie*, 19(5), 349-364. <https://doi.org/10.1051/agro:19990503>
- Balesdent, J., Wagner, G. H., & Mariotti, A. (1988). Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by carbon-13 natural abundance. *Soil Science Society of America Journal*, 52(1), 118-124. <https://doi.org/10.2136/sssaj1988.03615995005200010021x>
- Bautista, J. I., & Hernández, J. J. A. (2021). Determinación del carbono orgánico por el método químico y por calcinación. *Ingeniería y Región*, 26, 20-28. <https://doi.org/10.25054/22161325.2527>
- Bot, A., & Benites, J. (2005). The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food production [FAO Soils Bulletin 80]. FAO.
- Cambardella, C. A., & Elliott, E. T. (1992). Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Science Society of America Journal*, 56(3), 777-783. <https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600030017x>
- Carvajal-Agudelo, B. N., & Andrade, H. J. (2020). Captura de carbono en biomasa de sistemas de uso del suelo, municipio de Yopal, Casanare, Colombia. *Orinoquia*, 24(1), 13-22. <https://doi.org/10.22579/20112629.587>
- Cotrufo, M. F., Ranalli, M. G., Haddix, M. L., Six, J., & Lugato, E. (2019). Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nature Geoscience*, 12(12), 989-994. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0484-6>
- Conyers, M. K., Poile, G. J., Oates, A. A., Waters, D., & Chan, K. Y. (2011). Comparison of three carbon determination methods on naturally occurring substrates and the implication for the quantification of 'soil carbon'. *Soil Research*, 49(1), 27-33. <https://doi.org/10.1071/SR10103>

- Christensen, B. T. (2001). Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European Journal of Soil Science*, 52, 345–353. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2001.00417.x>
- De Vos, B., Van Meirvenne, M., Quataert, P., Deckers, J., & Muys, B. (2005). Predictive quality of pedotransfer functions for estimating bulk density of forest soils. *Soil Science Society of America Journal*, 69(2), 500–510. <https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0500>
- Eyherabide, M., Saínz Rozas, H., Barbieri, P., & Echeverría, H. E. (2014). Comparación de métodos para determinar carbono orgánico en suelo. *Ciencia del suelo*, 32(1), 13–19.
- FAO. (2017). Carbono orgánico del suelo: el potencial oculto.
- Farfán, F. F., & Urrego, J. B. (2007). Descomposición de la hojarasca y liberación de nutrientes de *Coffea arabica*, *Cordia alliodora*, *Pinus oocarpa* y *Eucalyptus grandis* en sistemas agroforestales con café. *Cenicafé*, 58(1), 20–39.
- Fawzy, S., Osman, A. I., Doran, J., & Rooney, D. W. (2020). Strategies for mitigation of climate change: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18, 2069–2094. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01059-w>
- Feller, C., & Beare, M. H. (1997). Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma*, 79(1-4), 69–116. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00039-6](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00039-6)
- Fox, J., & Weisberg, S. (2019). An R companion to applied regression [3a ed]. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Galantini, J. A. (2008). Fraccionamiento de la materia orgánica del suelo. En *Estudio de las fracciones orgánicas en suelos de Argentina* [pp. 19–39]. Editorial de la Universidad Nacional del Sur.
- Galantini, J. A., & Iglesias, J. O. (2018). *Las fracciones orgánicas del suelo: ¿Por qué y cómo separarlas?* En *Siembra directa en el suroeste bonaerense* [pp. 2–6]. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.
- García, A. (2008). La materia orgánica (MOS) y su papel en lucha contra la degradación del suelo. In *Memorias Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo* [Vol. 18].
- Georgiou, K., Jackson, R. B., Vindušková, O., Abramoff, R. Z., Ahlström, A., Feng, W., Harden, J. W., Pellegrini, A., Polley, H. W., Soong, J. L., Riley, W. J., & Torn, M. S. (2022). Global stocks and capacity of mineral-associated soil organic carbon. *Nature communications*, 13, artículo 3797. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31540-9>
- Grewal, K. S., Buchan, G. D., & Sherlock, R. R. (1991). A comparison of three methods of organic carbon determination in some New Zealand soils. *Journal of Soil Science*, 42(2), 251–257. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1991.tb00406.x>
- Haddix, M. L., Gregorich, E. G., Helgason, B. L., Janzen, H., Ellert, B. H., & Cotrufo, M. F. (2020). Climate, carbon content, and soil texture control the independent formation and persistence of particulate and mineral-associated organic matter in soil. *Geoderma*, 363, artículo 114160. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114160>
- Heckman, K., Hicks Pries, C. E., Lawrence, C. R., Rasmussen, C., Crow, S. E., Hoyt, A. M., Fromm, S. F., Shi, Z., Stoner, S., McGrath, C., Beem-Miller, J., Berhe, A. A., Blankinship, J. C., Keiluweit, M., Marín-Spiotta, E., Monroe, J. G., Plante, A. F.,

- Schimel, J., Sierra, C. A., Thompson A., & Wagai, R. (2022). Beyond bulk: Density fractions explain heterogeneity in global soil carbon abundance and persistence. *Global Change Biology*, 28(3), 1178–1196. <https://doi.org/10.1111/gcb.16023>
- Howard, P. J. A., Howard, D. M., & Lowe, L. E. (1998). Loss on ignition and organic carbon content in a podzol. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 29(5–6), 727–739.
- Hudson, B. D. (1994). Soil organic matter and available water capacity. *Journal of Soil and Water Conservation*, 49(2), 189–194. <https://doi.org/10.1080/00224561.1994.12456850>
- Icontec. (2013). *Norma Técnica Colombiana NTC 5403:2013. Calidad del suelo. Determinación del carbono orgánico oxidable por el método Walkley-Black*. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). <https://tienda.icontec.org>
- Irizar, A., Andriulo, A., Cosentino, D., & Améndola, C. (2010). Comparación de dos métodos de fraccionamiento físico de la materia orgánica del suelo. *Ciencia del Suelo*, 28(1), 115–121.
- Kononova, M. M. (1966). *Soil organic matter: Its nature, its role in soil formation and in soil fertility*. Pergamon Press.
- Keiluweit, M., Bougoure, J., Nico, P., Pett-Ridge, J., Weber, P., & Kleber, M. (2015). Mineral protection of soil carbon counteracted by root exudates. *Nature Clim Change*, 5, 588–595. <https://doi.org/10.1038/nclimate2580>
- Kleber, M., Nico, P. S., Plante, A., Filley, T., Kramer, M., Swanston, C., & Sollins, P. (2011). Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant: implications for modeling concepts and temperature sensitivity. *Global Change Biology*, 17, 1097–1107. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02278.x>
- Kögel-Knabner, I., Guggenberger, G., Kleber, M., Kandeler, E., Kalbitz, K., Scheu, S., ... Leinweber, P. (2008). Organo-mineral associations in temperate soils: Integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171, 61–82. <https://doi.org/10.1002/jpln.200700048>
- Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, 123, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.032>
- Lal, R. (2016). Soil health and carbon management. *Food and Energy Security*, 5(4), 212–222. <https://doi.org/10.1002/fes3.96>
- Lavallee, J. M., Soong, J. L., & Cotrufo, M. F. (2020). Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. *Global Change Biology*, 26(1), 261–273. <https://doi.org/10.1002/fes3.96>
- Lawrence, C. R., Beem-Miller, J., Hoyt, A. M., Monroe, G., Sierra, C. A., Stoner, S., & Wagai, R. (2020). An open-source database for the synthesis of soil radiocarbon data: International Soil Radiocarbon Database (ISRaD) version 1.0. *Earth System Science Data*, 12(1), 61–76. <https://doi.org/10.5194/essd-12-61-2020>
- Leal, L. A., Salamanca-Jiménez, A., & Sadeghian-Khalajabadi, S. (2008). Pérdidas de nitrógeno por volatilización en cafetales en etapa productiva. *Cenicafé*, 58(3), 216–226.
- Leuthold, S. J., Haddix, M. L., Lavallee, J. M., & Cotrufo, M. F. (2023). *Physical fractionation techniques*. En S. Staunton (Ed.), *Encyclopedia of Soils in the Environment* [2^a ed., pp. 68–80]. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822974-3.00067-7>

- Leuthold, S., Lavalley, J. M., Haddix, M. L., & Cotrufo, M. F. (2024). Contrasting properties of soil organic matter fractions isolated by different physical separation methodologies. *Geoderma*, 445, 116870. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2024.116870>
- Lorenz, K., & Lal, R. (2016). *Soil organic carbon: an appropriate indicator to monitor trends of land and soil degradation within the SDG framework*. Dessau-Roßlau.
- Mahieu, N., Powlson, D. S. and Randall, E. W. (1999). Statistical analysis of published carbon-13 CPNMA NMR spectra of soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 63, 307–319. <https://doi.org/10.2136/sssaj1999.03615995006300020008x>
- Martínez, J. M., Duval, M. E., López, F. M., Iglesias, J. O., & Galantini, J. A. (2017). Ajustes en la estimación de carbono orgánico por el método de calcinación en Molisoles del sudoeste bonaerense. *Ciencia del Suelo*, 35(1), 171–180.
- Matus, F. J., & Maire, C. R. (2000). Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno. *Agricultura Técnica*, 60(2), 112–126. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072000000200003>
- Nanzyo, M., Shoji, S., & Dahlgren, R. (1993). Physical characteristics of volcanic ash soils. In *Developments in soil science* [Vol. 21, pp. 189–207]. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(08\)70268-X](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(08)70268-X)
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1996). Total carbon, organic carbon, and organic matter. *Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods*, 5, 961–1010. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c34>
- Nombela, G., & Bello, A. (1983). Modificaciones al método de extracción de nematodos fitoparásitos por centrifugación en azúcar. *Boletín Servicio de Plagas*, 9, 183–189.
- Ogle, D. H., Wheeler, P., & Dinno, A. (2021). FSA: Fisheries Stock Analysis. R package version 0.8.32. <https://github.com/droglenc/FSA>
- Ogle, S. M., & Paustian, K. (2005). Soil organic carbon as an indicator of environmental quality at the national scale: Inventory monitoring methods and policy relevance. *Canadian Journal of Soil Science*, 85(Special Issue), 531–540. <https://doi.org/10.4141/S04-087>
- Ondrasek, G., Bakić Begić, H., Zovko, M., Filipović, L., Meriño-Gergichevich, C., Savić, R., & Rengel, Z. (2019). Biogeochemistry of soil organic matter in agroecosystems & environmental implications. *Science of the Total Environment*, 658, 1559–1573. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.243>
- Ortiz Contla, J. I. (2022). *Índices de calidad del suelo y almacenamiento de carbono bajo manejo silvopastoril: recuperación de bosques nativos degradados en la zona precordillerana del centro-sur de Chile* [Tesis de doctorado, Repositorio Universidad de Concepción].
- Paz, F., Covalada, S., Hidalgo, C., Etchevers, J., & Matus, F. (2016). Modelación simple y operativa de la distribución del carbono orgánico por fracciones físicas en los suelos. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 321–337.
- Paz, F., Covalada, S., Hidalgo, C., Matus, F., Báez, A., Velázquez, A. S., & Etchevers, J. D. (2022). Patrones de la distribución del carbono orgánico por fracciones de partículas primarias del suelo. *Terra Latinoamericana*, 40, artículo e1322. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1322>

- Pribyl, D. W. (2010). A critical review of the conventional SOC to SOM conversion factor. *Geoderma*, 156(3-4), 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.02.003>
- Riaño, N. M., Arcila, J. P., Jaramillo, A. R., & Chaves, B. C. (2005). Acumulación de materia seca y extracción de nutrimentos por *Coffea arabica* L. cv. Colombia en tres localidades de la zona cafetera central. *Cenicafé*, 55(4), 265–276.
- Reeves III, J., McCarty, G., & Mimmo, T. (2002). The potential of diffuse reflectance spectroscopy for the determination of carbon inventories in soils. *Environmental Pollution*, 116, 277–284. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00259-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00259-7)
- Rosell, R. A., Gasparoni, J. C., & Galantini, J. A. (2001). Soil organic matter evaluation. En R. Lal, J. M. Kimble, R. F. Follett & B. A. Stewart (Eds.), *Assessment methods for soil carbon* [pp. 311–322]. Lewis Publishers.
- Ruiz-Dager, M., de Cori, C. E. C., Sosa, F., Aular, L. M., Mora, R., Castillo, L. C., ... & Gámez, F. (2023). Comparación de métodos para analizar materia orgánica en materiales orgánicos: Comparison of methods for analyzing organic matter in organic materials. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 6(3), 2331–2341. <https://doi.org/10.34188/bjaerv6n3-030>
- Schmidt, M. W., Torn, M. S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D. A. C., Nannipieri, P., Rasse, D. P., Weiner, S., & Trumbore, S. E. (2011). Persistencia de la materia orgánica del suelo como propiedad ecosistémica. *Naturaleza*, 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Schnitzer, M. (1999). A lifetime perspective on the chemistry of soil organic matter. *Advances in Agronomy*, 68, 1-58. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60842-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60842-1)
- Schulte, E. E., & Hopkins, B. G. (1996). *Estimation of soil organic matter by weight loss-on-ignition. Soil organic matter: Analysis and interpretation* [SSSA Special Publication No. 46, pp. 21–31]. Soil Science Society of America.
- Schumacher, B. A. (2002). *Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments* [pp. 1-23]. US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Ecological Risk Assessment Support Center.
- Trumbore, S. (2009). Radiocarbon and soil carbon dynamics. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 37, 47–66. <https://doi.org/10.1146/annurev.earth.36.031207.124300>
- Von Lützwow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., & Flessa, H. (2006). Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions – a review. *European Journal of Soil Science*, 57(4), 426–445. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x>
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29–38. <https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_9
- William, S. (1908). The probable error of a mean. *Biometrika*, 6(1), 1–25. <https://doi.org/10.2307/2331554>

- Williams, E. K., Fogel, M. L., Berhe, A. A., & Plante, A. F. (2018). Distinct bioenergetic signatures in particulate versus mineral-associated soil organic matter. *Geoderma*, 330, 107-116. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.05.024>
- Witzgall, K., Vidal, A., Schubert, D. I., Höschel, C., Schweizer, S. A., Buegger, F., Pouteau, V., Chenu, C., & Mueller, C. W. (2021). Particulate organic matter as a functional soil component for persistent soil organic carbon. *Nature Communications*, 12, artículo 4115. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24192-8>