

C

LA MATERIA ORGANICA

Introducción.

La materia orgánica del suelo es una mezcla heterogénea de residuos orgánicos de vegetales o animales en cualquier grado de descomposición, introducidos en el suelo, y del humus, mezcla compleja de sustancias coloidales producto final de la descomposición. Todos estos materiales entran a un conjunto de reacciones biológicas y químicas que ocurren entre la planta, el suelo y los microorganismos, constituyendo un ciclo bioquímico. Esta mejora las condiciones físicas, aumenta la capacidad de intercambio de los suelos y también aporta N, P, K y S para la nutrición de las plantas. Ayuda a la disponibilidad de los elementos menores y de agua.

El contenido de materia orgánica presenta grandes variaciones tanto cualitativas como cuantitativas de acuerdo con su naturaleza, las vías y la velocidad de descomposición y de su incorporación al suelo.

Consiste en compuestos orgánicos tales como:

- Carbohidratos que van desde la celulosa hasta los azúcares, incluyendo los intermedios (hemicelulosas, pectinas, almidones, etc.).
- Proteínas, sus derivados y los compuestos degradados hasta aminoácidos.
- Grasas y sus derivados.
- Ligninas y sus compuestos.
- Sustancias tánicas, polifenoles, resinas, etc.
- Ácidos orgánicos, principalmente los ácidos húmicos y fúlvicos.
- Otros componentes (bacterias, hongos, residuos de organismos vivos).

Estos compuestos orgánicos presentan diferentes grados de resistencia a la descomposición u oxidación, tanto a las reacciones bioquímicas del suelo como a los reactivos oxidantes peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).

Este grado de resistencia se clasifica de mayor a menor, así: ligninas, ceras, grasas, celulosa, ácidos húmicos y fúlvicos, hemicelulosas, proteínas, aminoácidos, almidones, algunos ácidos orgánicos y azúcares.

Para analizar la materia orgánica en los suelos se pueden utilizar métodos volumétricos, gravimétricos y colorimétricos. Entre los métodos más sencillos para su determinación están los que se basan en el consumo de un oxidante que actúa sobre el carbono y luego de terminación colorimétrica o volumétrica.

Walkley y Black encontraron que la eficiencia de la reacción de oxidación de la materia orgánica de los suelos con solución de $K_2Cr_2O_7$ en medio sulfúrico, bajo las condiciones dadas por ellos, era del 77%. Determinaron que en promedio, la materia orgánica de los suelos agrícolas contiene aproximadamente 58% de carbono.

Con base en estos resultados experimentales Walkley y Black dedujeron un factor (0,6708) con el cual se calcula el porcentaje de materia orgánica de un suelo.

C-1. METODO DE WALKLEY Y BLACK PARA MATERIA ORGANICA.

Principio del método.

La muestra de suelo se trata con un volumen conocido de solución de $K_2Cr_2O_7$, que actúa como oxidante, en un medio fuertemente ácido (H_2SO_4 concentrado) en una proporción estipulada. El calor desprendido por la reacción del H_2SO_4 al diluirse favorece la acción del $K_2Cr_2O_7$ para que oxide la materia orgánica. El exceso de oxidante se determina titulado con una solución de $FeSO_4$ de normalidad conocida, que actúa como reductor.

Cuando el contenido de cloruros del suelo es considerable (p.e.: suelos salinos), éstos interfieren la titulación puesto que consumen $K_2Cr_2O_7$. Para evitar esta interferencia se precipitan con anterioridad en forma de $AgCl$ mediante la adición de Ag_2SO_4 al ácido sulfúrico.

Equipo.

- Balanza analítica Mettler H35.
- Mesa de trabajo con superficie aislante del calor (cubierta de asbesto, madera, fórmica o neolite, etc), para evitar pérdidas de calor durante la reacción.
- Estufa controlada a 105 ± 5 °C.

Reactivos.

- H_3PO_4 al 85% grado analítico (G.A.).
- H_3PO_4 grado técnico (G.T.).
- H_2SO_4 G.A. concentrado (concentración no menor del 96%).
- H_2SO_4 G.T. para análisis de rutina.
- Solución 1N de $K_2Cr_2O_7$. Disolver en agua 49,04 g de $K_2Cr_2O_7$ G.A., previamente secado a 103 °C durante dos horas, y diluir a un litro. Guardar en frasco ámbar.
- Solución indicadora. Puede utilizarse cualquiera de las tres siguientes:
 1. Difenilaminosulfonato de bario. Disolver 0,67 g de este reactivo en 100 ml de agua.
 2. Difenilamina. Disolver aproximadamente 0,5 g de este reactivo en 20 ml de agua y 100 ml de H_2SO_4 concentrado grado analítico. Filtrar en un crisol de Gooch después de dejar en reposo.
 3. O-Fenantrolina. Disolver 1,48 g con 0,7 g de sulfato ferroso en 100 ml de agua.

— Solución 0,5N de sulfato ferroso. Puede utilizarse cualesquiera de las tres siguientes:

1. A partir de sulfato ferroso hidratado. Disolver 139 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ en 800 ml de agua que contenga 40 ml de H_2SO_4 concentrado G.A., dejar enfriar y diluir a un litro.
2. A partir de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Disolver 196 g de este reactivo en 800 ml de agua que contenga 20 ml de H_2SO_4 concentrado G.A., dejar enfriar y diluir a un litro.
3. A partir de sulfato ferroso grado técnico. Similar al primero (139 g aproximadamente). Filtrar para quitar los materiales insolubles indeseables.

Observación.

El Fe^{+2} en estas soluciones se oxida lentamente cuando se expone al aire. Se debe valorar con solución de dicromato, cada vez que se utilice.

— Solución de ácido sulfúrico con sulfato de plata 2,50/o p/v. Disolver 2,5 g de sulfato de plata en un litro de ácido sulfúrico G.A.

Materiales.

Un erlenmeyer de 500 ml por cada muestra.
Una pipeta volumétrica de 10 ml.
Una pipeta graduada de 1 ml.
Una bureta de 25 ml.
Un dispensador de 10 ml para el ácido fosfórico.
Un dispensador de 20 ml para el ácido sulfúrico.
Un beaker con señal en 150 ml para el agua.

Determinación.

Para cada serie de determinaciones de la materia orgánica se debe preparar el $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ y comprobar la normalidad de la solución ferrosa con reactivos G.A.

Para pesar la muestra para materia orgánica se pasa antes por malla de 60 mesh.

Procedimiento	Observaciones
Colocar en el erlenmeyer de 500 ml 0,3 g de suelo seco. Llevar dos erlenmeyer sin muestra de suelo que servirán como blancos: blanco reactivo y blanco tanda.	En suelos que se espere menos de 20/o de materia orgánica deben tomarse 5 g de muestra. En suelos con contenidos mayores de 20/o, se deben tomar 0,15 g de muestra. El blanco con reactivos G.A. sirve para calcular la normalidad del sulfato ferroso. El blanco (B) con reactivos grado técnico, sirve para los cálculos de la tanda.
Adicionar 10 ml de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1N con pipeta volumétrica. Agitar.	El $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en medio fuertemente sulfúrico oxida la materia orgánica.
Añadir 20 ml de H_2SO_4 concentrado. Agitar fuertemente por un minuto.	El calor desprendido por la reacción ayuda a la oxidación. Cuando la prueba cualitativa de cloruros con AgNO_3 es positiva, para evitar la interferencia de éstos en la titulación se usa la solución de ácido sulfúrico con sulfato de

Procedimiento	Observaciones	Cálculo y expresión de los resultados.
	plata 2,50%. Esto para precipitar los cloruros.	El porcentaje de materia orgánica de una muestra de suelo se calcula aplicando la siguiente fórmula:
Dejar reposar durante media hora.	Como la reacción no es instantánea, requiere de este tiempo para que sea representativa.	$\% \text{ M.O.} = \frac{0,6708 (B-M) N}{\text{Peso muestra suelo en gramos}}$
Agregar 150 ml de agua.	El agua aclara la solución, lo que permite apreciar mejor el punto final en la titulación.	<p>Cuando se pesa 0,3 g queda:</p> $\% \text{ M.O.} = 2,236 (B-M) N$
Agregar 10 ml de H ₃ PO ₄ al 85% y 0,5 ml de indicador.	El H ₃ PO ₄ se adiciona para evitar la interferencia del Fe.	<p>En donde:</p> <p>B = ml de solución ferrosa en la titulación del blanco.</p> <p>M = ml solución ferrosa gastados en la titulación de la muestra de suelo.</p> <p>N = Normalidad exacta de la solución ferrosa, ésta se obtiene así:</p>
Titular los blancos con solución ferrosa para conocer la normalidad del sulfato ferroso. El punto final está dado por el paso de un color azul a un verde brillante (Rosa a verde cuando se usa O-fenantrolina).	Esta titulación sirve para calcular la normalidad exacta de la solución ferrosa (N), importante para los cálculos de M.O. La titulación del blanco de la tanda es necesaria para el cálculo del porcentaje de la materia orgánica. Su valor se denomina B en la fórmula del cálculo.	<p>(Con reactivos G.A.)</p> $N \text{ Sol. ferrosa} = \frac{\text{ml de K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ 1N añadidos}}{\text{ml de solución ferrosa gastados}}$
Titular las muestras en forma similar al paso anterior.	El consumo de solución ferrosa en la titulación de cada muestra se denomina M. en la fórmula del cálculo de la materia orgánica.	<p>El porcentaje de la materia orgánica se expresa con una sola cifra decimal.</p> <p>P(0,05): ± 0,6%. Esta tolerancia es la máxima permitida en el suelo patrón.</p> <p>Programa en la calculadora Sharp PC 1001:</p> <p>Normalidad del sulfato ferroso X → M, 2, ml del Blanco X → M, 1.</p> $\text{HFS} + /-, +, \text{MR1} \times \text{MR} 2 \times 0,6708 \div \text{peso d muestra} = \text{FH.}$ <p>H es la única variable y es el consumo M en cada muestra.</p> <p>Para hallar la respuesta será: M(variable), S.</p>

C-2. METODO COLORIMETRICO PARA DETERMINAR MATERIA ORGANICA EN EL SUELO

. Principio del método.

La muestra de suelo se trata con un volumen suficiente de solución de dicromato de potasio que actúa como oxidante en un medio fuertemente ácido, en una proporción determinada. El calor desprendido por la reacción exotérmica del ácido al diluirse, favorece la acción del dicromato para que oxide la materia orgánica (M. O.). Se determina el color verde del ácido crómico reducido a 585 n.m., el cual es proporcional a la M. O. que reacciona.

. Equipo.

- Balanza analítica Mettler P-160.
- Mesa de trabajo con superficie aislante del calor (cubierta de madera o neolite) para evitar pérdidas de calor durante la reacción.
- Espectrofotómetro PM 2A ó Spectronic 20.
- Estufa con control de temperatura 105 ± 2 °C.

. Reactivos.

- Acido sulfúrico G.A. Concentración no menor del 96%.
- Solución de dicromato de potasio 1N aproximadamente. Disolver 50 g de $K_2Cr_2O_7$ G.A. y llevar con agua a 1 litro.
- Sacarosa G.A.:
Secar a 105 °C durante dos horas.
- Solución patrón: Disolver 50 g de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) y llevar a 1 litro. Cada ml de esta solución contiene 50 mg de sacarosa.
- Soluciones de trabajo para gráficas patrón: Tomar de la solución patrón, alí-

cuotas de 2, 5, 10, 15, 20, 25 y 50 ml, depositarlos en frascos volumétricos de 100 ml y llevar a volumen.

De cada una de las soluciones preparadas tomar 2 ml, depositarlos en erlenmeyer de 250 ml y secarlos en estufa a 105 °C, de manera que cada uno contiene 2, 5, 10, 15, 20, 25 y 50 mg de sacarosa para colorear, siguiendo el mismo proceso utilizado para las muestras.

Nota: Para trabajo de rutina no se hará la gráfica patrón; es suficiente llevar el patrón de suelo; en caso de tener una desviación mayor a 0,6% se procederá a efectuar nueva calibración.

. Materiales.

- Erlenmeyer de 500 ml por cada muestra.
- Dispensador de 10 ml graduable "Dispet TM" para el $K_2Cr_2O_7$ 1N.
- Dispensador de 20 ml para el H_2SO_4 .
- Pipeta volumétrica de 2 ml para cada patrón.
- Beaker de 250 ml con señal en 150 ml para el agua.
- Tubo de ensayo de 50 ml aproximadamente.
- Frasco volumétrico de 1 litro.
- Seis frascos volumétricos de 100 ml.
- Reloj.

Procedimiento	Observaciones
Colocar en erlenmeyer 0,3 g de suelo seco pasado por tamiz N° 60 (mesh 60).	Llevar el blanco respectivo sin suelo.
Agregar 10 ml de dicromato 1N con dispensador "Dispet TM" a las muestras de suelo y a los patrones preparados. Agitar.	El dicromato en medio fuertemente sulfúrico, oxida la M.O.

Procedimiento	Observaciones	
Añadir 20 ml de ácido sulfúrico concentrado G. A., con dispensador. Se agita fuertemente por 1 minuto.	El calor desprendido por la reacción ayuda a la oxidación.	En caso de que el contenido de M. O. sea mayor de 20% debe repetirse el análisis con 20 ml de dicromato de potasio y adición de 140 ml de agua en vez de 150 ml. El porcentaje de M. O. se debe expresar con un decimal.

P (0,05): $\pm 0,6\%$

Dejar en reposo durante media hora.	Como la reacción no es instantánea, se requiere de este tiempo para que sea completa.	C-3. DETERMINACION GRAVIMETRICA DE CARBONO EN SUELOS.
-------------------------------------	---	---

Principio del método.

Agregar 150 ml de agua destilada.	Dilución que se hace para aclarar la solución y rebajar la concentración del ácido.	El método se basa en la oxidación de la materia orgánica con dicromato de potasio en medio fuertemente ácido y calor para formar CO ₂ , el cual es purificado y luego capturado en "Ascarita" para determinarlo gravimétricamente.
-----------------------------------	---	---

Dejar enfriar y sedimentar unas dos horas.

Transvasar con cuidado a los tubos de ensayo para dejar la arcilla en el erlenmeyer.

Las ventajas del método sobre otros similares están en que mide directamente el C como CO₂ y en la ausencia del uso de factores empíricos para calcular el carbono indirectamente.

El cuadro a 0 se hace con el blanco.

Se usan temperaturas adecuadas para la total conversión del C de la materia orgánica a CO₂ que en otros métodos se ha comprobado que es incompleta por falta de calentamiento.

La As se lee en el PM2A a 585 n.m., cuadrando el 0 con el blanco de la tanda.

Materiales.

Cálculos.

$$\% \text{ M. O.} = 59,47 \text{ As} - 0,098.$$

Cuando se toma un peso diferente:

$$\% \text{ M.O.} = \frac{\text{As muestra}}{\text{As patrón}} \times \frac{\text{mg Sacarosa}}{\text{mg muestra}} \times 100$$

Torre purificadora de aire:
 Altura 50 cm; ancho 10 cm; Ø 10 cm.
 Entrada 2,5 cm., tapón N° 4.
 Salida 5,0 cm., tapón N° 11.

. Balón de digestión de fondo redondo con dos bocas esmeriladas NS 19/22.

. Embudo de separación con tapa NS 19/22.

. Unión de doble entrada NS 19/22.

- . Tapón de caucho con entrada para termómetro o varilla.
 - . Tubo de vidrio con terminación en punta.
 - . Refrigerante de bolas con acople NS 22/26.
 - . Tres erlenmeyers de 250 ml con tapón de caucho N° 7 con dos orificios.
 - . Frasco lavador de gases de doble entrada para trampa de yoduro de potasio.
 - . Tubo en U con dos llaves, para llenar el lado izquierdo con Zn en polvo y el lado derecho con perclorato de magnesio.
 - . Bulbos de absorción de CO₂ (Stetser-Norton).
 - . Compresor o bomba de aire (marca Neuberger) 0,08 KW.
- Balanzas analíticas Mettler; H35 y H26, precisión 0,1 mg.
- . Regulador de presión de oxígeno-acetileno Beckman Cat. N° 9220.
 - . Mechero de alcohol.
 - . Reloj (Timer).
 - . Dos erlenmeyers de dos litros para vacío.
 - . Burbujómetro para medir los flujos de gas.
 - . Dispensador de 25 ml.
 - . Soportes.
 - . Tapones de caucho.

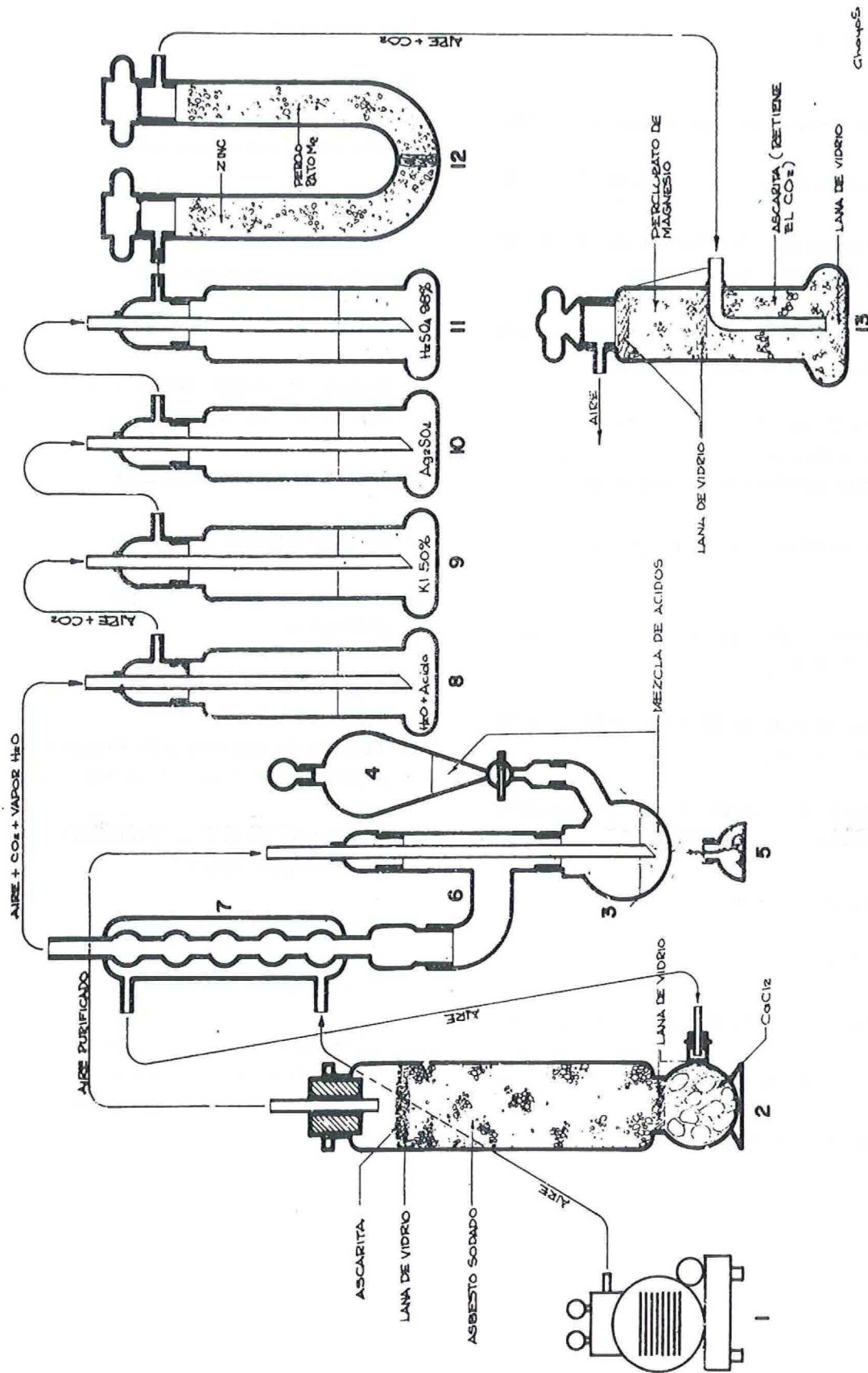
- . Mangueras de caucho.
- . Pinzas.
- . Cápsulas de vidrio pequeñas.

Equipo.

Se monta según la Figura N° 1.

Reactivos.

1. Mezcla de ácidos: 600 ml de H₂SO₄ más 400 ml de H₃PO₄ al 85^o/_o.
2. Dicromato de potasio G.A.
3. Asbesto sodado Merck.
4. Cloruro de calcio G.A. para utilizar como desecador.
5. Ascarita 8 - 20 mesh y 20 - 30 mesh.
6. Yoduro de potasio G.A. Preparar solución al 50^o/_o: 100 g de KI en 100 ml de agua.
7. Sulfato de plata G.A. Preparar solución saturada: 1 g en 100 ml.
8. Acido sulfúrico G.A. 98^o/_o.
9. Zinc metálico 30 mesh.
10. Perclorato de magnesio anhidro (Reidel de Haen). Debe tenerse especial cuidado con el envase porque el reactivo es muy higroscópico.
11. Acido benzóico G.A.
12. Sacarosa G.A.



1) Bomba de aire con presión y vacío. 2) Torre purificadora de aire. 3) Balón de digestión de 250 ml. 4) Embudo de separación con tapa. 5) Mechero de alcohol. 6) Unión de doble entrada. 7) Refrigerante con bolas. 8) Trampa de agua acidulada. 9) Trampa con yoduro de potasio 50%. 10) Trampa con sulfato de plata. Solución saturada. 11) Trampa de ácido sulfúrico al 98%. 12) Tubo en U con Zn en granallas y perclorato de Mg. 13) Bulbo para absorción de CO₂.

FIGURA 1.- DETERMINACION GRAVIMETRICA DEL DIOXIDO DE CARBONO.

Procedimiento	Observaciones	Procedimiento	Observaciones
Purga del equipo: Ajustar la presión del aire en el regulador entre 1 y 2 lb/pulg ² y hacer pasar aire a través del equipo durante una hora.	Medir el flujo del aire al final del circuito por medio del burbujómetro. Ajustar el flujo a 400 ml/min.	tre al balón de destilación. Encender la bomba de aire y ajustar el regulador de presión entre 0 - 1 lb/pulg ² que equivale a un flujo de 150 ml/min. aproximadamente.	Usar el burbujómetro para chequear el flujo cuando haya cualquier cambio.
Mientras tanto, se taran los dos bulbos de absorción (Nº 13) que deben estar identificados.	Para el efecto, se acondiciona un alambre al cuello del bulbo con el fin de pesarlo directamente colgándolo del gancho de la balanza Mettler H26 sin usar el platillo.	Encender el mechero de alcohol y colocarlo bajo el balón de destilación; medir 10 minutos	Controlar el calentamiento retirando un poco la llama, si es necesario, para evitar la formación de humos blancos (SO ₃).
Blancos de aire: Colocar al final de la línea un bulbo de absorción (Nº 13) tarado y hacer pasar aire durante 25 minutos con presión 1-2 lb/pulg ² (400 ml/min). Luego retirar y pesar; se calcula la diferencia.	Continuar este proceso alternando los bulbos hasta que el peso sea estable. El uso de perclorato de magnesio en la parte superior del bulbo es muy importante.	Terminados los 10 minutos, retirar el mechero, aumentar la presión del aire de 1 -2 lb/pulg ² en el regulador y medir nuevamente 10 minutos.	Este procedimiento sirve para arrastrar el CO ₂ que se halla en el equipo. El tiempo de arrastre es muy importante.
Blanco de reactivos: Colocar al final de la línea un bulbo de absorción tarado. Quitar el embudo de separación (4) y agregar 1 g de dicromato de potasio; colocar de nuevo el embudo y poner en él 25 ml de la mezcla de ácidos, abrir la llave de paso para que el ácido en-	Abrir la válvula de entrada al bulbo. Utilizar un pequeño embudo de plástico, para evitar que el dicromato se adhiera a la boca del balón. Agregar el ácido con dispensador. Asegurar la punta del tubo aireador para que quede sumergida a 0,5 cm dentro de la mezcla digestora.	Apagar la bomba de aire. Destapar inmediatamente la entrada del embudo al frasco de destilación. Desconectar el bulbo y pesarlo. Apuntar la diferencia de peso en mg. Hacer varios blancos en esta misma forma hasta encontrar un promedio entre 1,0 y 1,5 mg.	Al destapar se evita que los líquidos se devuelvan dentro del sistema, por contra-presión.
		Lavado del balón de destilación: para lavar	

Procedimiento	Observaciones	Procedimiento	Observaciones
el balón antes de hacer otra determinación, seguir estos pasos:		tra dentro del balón y tapar inmediatamente con el embudo. Encender la bomba y ajustar la presión de aire entre 0 - 1 lb/pulg ² . Acercar el mechero de alcohol y medir 10 minutos con el reloj.	calentamiento (humo blanco). Para prevenir esto, se debe controlar el calentamiento retirando el mechero frecuentemente.
Conectar con una manguera la salida de succión de la bomba con la entrada del erlenmeyer de vacío.	Desconectar la manguera de salida del aire.	Finalizando este tiempo, aumentar la presión a 1 - 2 lb/pulg ² y retirar el mechero; medir nuevamente 10 minutos con el reloj.	
En la parte superior del erlenmeyer, acondicionar, con un tapón de caucho, una manguera plástica con suficiente longitud para ser introducida dentro del balón de digestión. Succionar repetidamente lavando con agua destilada hasta limpiar completamente.	Al finalizar el lavado recordar desconectar la manguera de succión y volver a conectar la de presión de aire.	Cuando termine los 10 minutos, apagar la bomba y destapar la entrada al balón quitando el embudo. Cerrar la llave de entrada al bulbo y la salida del tubo en U	
Determinación de patrones: Utilizar ácido benzoico y sacarosa grado analítico. Pesar 20-30 mg en una pequeña cápsula de vidrio. Colocar el bulbo tarado al final de la línea. Quitar el embudo de separación. Agregar por medio del embudo plástico 1 g de K ₂ Cr ₂ O ₇ y 25 ml de mezcla de ácidos. Rápidamente arrojar la cápsula con la mues-	Agregar el ácido cuidadosamente con el dispensador.	Retirar el bulbo y pesarlo. Anotar los mg de diferencia que equivalen a los mg de CO ₂ producidos.	Utilizar la balanza analítica Mettler H26.
	Recordar que no debe haber exceso de	Lavar el balón de digestión como se indicó y efectuar varias determinaciones: (3 con sacarosa).	Para sacar la cápsula de vidrio, utilizar con mucho cuidado un alambre con gancho en la punta.
		Calcular el porcentaje de recuperación (°/o Rec.), así:	

Procedimiento	Observaciones	Procedimiento	Observaciones
el balón antes de hacer otra determinación, seguir estos pasos:		tra dentro del balón y tapar inmediatamente con el embudo. Encender la bomba y ajustar la presión de aire entre 0 - 1 lb/pulg ² . Acercar el mechero de alcohol y medir 10 minutos con el reloj.	calentamiento (humo blanco). Para prevenir esto, se debe controlar el calentamiento retirando el mechero frecuentemente.
Conectar con una manguera la salida de succión de la bomba con la entrada del erlenmeyer de vacío.	Desconectar la manguera de salida del aire.	Finalizando este tiempo, aumentar la presión a 1 - 2 lb/pulg ² y retirar el mechero; medir nuevamente 10 minutos con el reloj.	
En la parte superior del erlenmeyer, acondicionar, con un tapón de caucho, una manguera plástica con suficiente longitud para ser introducida dentro del balón de digestión. Succionar repetidamente lavando con agua destilada hasta limpiar completamente.	Al finalizar el lavado recordar desconectar la manguera de succión y volver a conectar la de presión de aire.	Cuando termine los 10 minutos, apagar la bomba y destapar la entrada al balón quitando el embudo. Cerrar la llave de entrada al bulbo y la salida del tubo en U	
Determinación de patrones: Utilizar ácido benzoico y sacarosa grado analítico. Pesar 20-30 mg en una pequeña cápsula de vidrio. Colocar el bulbo tarado al final de la línea. Quitar el embudo de separación. Agregar por medio del embudo plástico 1 g de K ₂ Cr ₂ O ₇ y 25 ml de mezcla de ácidos. Rápidamente arrojar la cápsula con la mues-	Agregar el ácido cuidadosamente con el dispensador.	Retirar el bulbo y pesarlo. Anotar los mg de diferencia que equivalen a los mg de CO ₂ producidos.	Utilizar la balanza analítica Mettler H26.
	Recordar que no debe haber exceso de	Lavar el balón de digestión como se indicó y efectuar varias determinaciones: (3 con sacarosa).	Para sacar la cápsula de vidrio, utilizar con mucho cuidado un alambre con gancho en la punta.
		Calcular el porcentaje de recuperación (°/o Rec.), así:	