



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E
INGENIERÍA**

ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

Análisis Fisicoquímico de Ácidos Húmicos
(AHs) y Evaluación Cinética de su Agregación
con Iones Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .

TESIS

Que para obtener el título de:

LICENCIADA EN QUÍMICA

PRESENTA:

Karen Carpio Domínguez

Director de Tesis: Dra. Silvia Nieto Velázquez

Co- Director: Dra. Ma. Elena Páez Hernández

Mineral de la Reforma, Hgo.

Julio 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Institute of Basic Sciences and Engineering
Área Académica de Química
Chemistry Department

M. en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO,
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DE LA U.A.E.H.,
Presente:

Por este medio le comunico que el Jurado asignado a la Pasante de la Licenciatura en Química **Karen Carpio Domínguez**, quien presenta el trabajo de titulación "**Análisis Físicoquímico de Ácidos Húmicos (AHs) y Evaluación Cinética de su Agregación con Iones Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺**" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

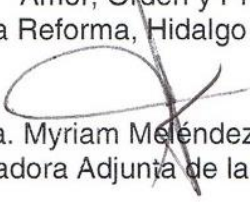
- | | |
|-------------------|--|
| PRESIDENTE: | M. en C. Araceli Sierra Zenteno |
| PRIMER VOCAL: | Dra. Silvia Nieto Velázquez |
| SEGUNDO VOCAL: | Dr. Carlos Andrés Galán Vidal |
| TERCER VOCAL: | Dra. María Elena Páez Hernández |
| SECRETARIO: | Dra. Yolanda Marmolejo Santillán |
| PRIMER SUPLENTE: | Dra. Irma Pérez Silva |
| SEGUNDO SUPLENTE: | Dr. Carlos Alexander Lucho Constantino |



Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

ATENTAMENTE
 "Amor, Orden y Progreso"
 Mineral de la Reforma, Hidalgo a 7 de julio de 2017.


 Dra. Myriam Meléndez Rodríguez
 Coordinadora Adjunta de la Lic. en Química.



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
 Área Académica de Química

Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca - Tulancingo km. 4.5
 Colonia Carboneras
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
 Tel. +52 771 7172000 exts. 2200 y 2201, Fax 6502
 aaq_icbi@uaeh.edu.mx



www.uaeh.edu.mx



Karen Carpio Domínguez agradece el financiamiento **PROMEP** con no. de oficio de liberación: DSA/103.5/14/10566.

AGRADECIMIENTOS

"Todo lo que siempre has querido está en el otro lado del miedo."

George Addair

Quiero agradecer a aquellas personas que me apoyaron para la realización y desarrollo de esta investigación.

A mis padres, **Enrique y Patricia**, por su apoyo incondicional a pesar del tiempo transcurrido, por los valores enseñados y la educación dada, ya que sin eso no sería la persona que soy hoy en día. Que gracias a su esfuerzo y duro trabajo estoy a un paso de lograr lo que siempre han anhelado, ser una profesional.

A mis hermanos, **Brandon y Stephany**, por apoyarme y estar conmigo en todo momento.

A mi novio, **Edgar**, por acompañarme en todo momento, su apoyo incondicional y por creer en mí.

A mi asesora la **Dra. Silvia Nieto Velázquez** por haberme permitido realizar este trabajo de investigación bajo su dirección.

A mi co-directora la **Dra. Ma. Elena Páez Hernández** por su apoyo e interés en el trabajo.

A la **Dra. Irma** por todo el apoyo brindado durante el tiempo que trabajé en el laboratorio.

A mi "padrino" el **Dr. José Antonio Rodríguez** porque jamás se negó a ayudarme y me apoyo cuando lo necesité.

Al **Dr. Alexander Lucho** por su asesoramiento en temas de los cuales desconocía.

MUCHAS GRACIAS

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Antecedentes.....	2
2.1 El suelo	2
2.2 Origen y formación del suelo.	2
2.3 Perfil del suelo.....	3
2.4 Componentes del suelo	4
2.5 Textura del suelo.....	5
2.6 Minerales (material inorgánico).....	6
2.6.1 Minerales primarios.....	7
2.6.2 Minerales secundarios	7
2.7 Materia orgánica	7
2.7.1 Composición de la materia orgánica.....	8
2.8 Humus.....	9
2.8.1 Propiedades generales del humus.....	10
2.8.2 Formación y componentes orgánicos del humus.....	11
2.9 Los ácidos húmicos.....	13
2.9.1 Aplicaciones de los ácidos húmicos.....	14
2.9.2 Estudio de cinéticas de agregación del AH en presencia de iones multivalentes.....	15
3. Justificación	17
4. Objetivos.....	18
4.1 Objetivo general	18
4.2 Objetivos específicos	18
5. Metodología experimental.....	19
5.1 Obtención y preparación de las muestras de suelo	19
5.2 Determinación del porcentaje de: carbono orgánico total (COT), materia orgánica (MO) y nitrógeno (N)	19
5.2.1 Determinación de COT por un método volumétrico.	20
5.2.2 Determinación de COT por un método espectrofotométrico.....	21
5.3 Determinación del pH y conductividad eléctrica.....	22
5.3.1 Determinación del pH en la solución del suelo	22
5.3.2 Determinación de la conductividad eléctrica del extracto de saturación	22
5.4 Determinación de textura del suelo.....	23

5.5	Determinación de Fe total en las muestras de suelo por absorción atómica	24
5.6	Extracción y purificación del AH proveniente del suelo	24
5.7	Caracterización de los AHs extraídos del suelo	25
5.7.1	Análisis elemental	25
5.7.2	Determinación del contenido de cenizas	25
5.7.3	Espectroscopia UV/Vis	25
5.7.4	Determinación de la acidez total y cantidad de grupos carboxílicos y fenólicos	26
5.7.5	Espectroscopia de IRTF	28
5.8	Estudio de las cinéticas de interacción de AHs en presencia de iones multivalentes	29
6.	Resultados y discusión	30
6.1	Determinación del porcentaje de: carbono orgánico total (COT), materia orgánica (MO) y nitrógeno (N)	30
6.2	Determinación del pH y conductividad eléctrica	31
6.3	Determinación de textura del suelo	32
6.4	Determinación de Fe total en las muestras de suelo por absorción atómica	33
6.5	Caracterización de los AHs (extraídos: AH-A y AH-T, y comercial: AH-CH)	34
6.5.1	Análisis elemental	34
6.5.2	Determinación del contenido de cenizas	35
6.5.3	Espectroscopia UV/Vis	36
6.5.4	Determinación de la acidez total y cantidad de grupos carboxílicos y fenólicos	37
6.5.5	Espectroscopia de IRTF	37
6.6	Estudio de las cinéticas de interacción de ahs en presencia de iones multivalentes	40
7.	Conclusiones	49
7.1	Perspectivas	49
Anexo I		50
	Comportamiento de los coloides	50
	Potencial Z	51
	Modelo capa difusa	51
	El balance de repulsión y atracción	52
8.	Bibliografía	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de un perfil de suelo.....	4
Figura 2. Triángulo de texturas.....	6
Figura 3. Proceso de formación de Ácidos Húmicos y Ácidos Fúlvicos.	12
Figura 4. Modelo hipotético de un Ácido Húmico	14
Figura 5. Estructura hipotética de un Ácido Húmico.....	14
Figura 6. Intercambio de metales entre humus y las plantas	16
Figura 7. Formación de los coloides en la interacción de AH-Metal.....	16
Figura 8. Espectros de absorción UV/Vis: [A] AH-CH, [B] AH-A y [C] AH-T.....	36
Figura 9. Espectro de IRTF: [A] AH-CH, [B] AH-A y [C] AH-T.....	38
Figura 10. ζ del AH-A sin metal y en presencia de metal (Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+})	40
Figura 11. Efecto de la concentración de Ca^{2+} en el ζ del AH-A, AH-CH Y AH-T	41
Figura 12. Efecto de la concentración de Mg^{2+} en el ζ del AH-A, AH-CH y AH-T	42
Figura 13. Efecto del tiempo en los valores del ζ del AH-CH con (a) Ca^{2+} y (b) Mg^{2+} a 1 y 3.5 mM, NaCl 15 mM.	44
Figura 14. Efecto del tiempo en los valores del ζ del AH-A con (a) Ca^{2+} y (b) Mg^{2+} a 1 y 3.5 Mm, NaCl 15 mM.....	45
Figura 15. Efecto del tiempo en los valores del ζ del AH-T con (a) Ca^{2+} y (b) Mg^{2+} a 1 y 3.5 mM, NaCl 15 mM.....	46
Figura 16. Formación de agregados AH-M	47
Figura 17. Distribución de tamaños de las partículas en el agua	50
Figura 18. Modelo de la capa difusa	51
Figura 19. Curva de energía neta de interacción.	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de materia orgánica.....	8
Tabla 2. Componentes químicos de la materia orgánica del suelo	9
Tabla 3. Propiedades generales del humus y sus efectos en el suelo	10
Tabla 3. Propiedades generales del humus y sus efectos en el suelo (<i>continuación</i>)..	11
Tabla 4. Determinación del %COT, %MO y %N por volumetría y espectroscopia....	30
Tabla 5. Determinación del pH y conductividad.	31
Tabla 6. Determinación de textura en los suelos.....	32
Tabla 7. Determinación de la cantidad de Fe en el suelo.....	33
Tabla 8. Composición elemental de los AHs en estudio.	34
Tabla 9. Relaciones: H/C y O/C con base a sus átomos.....	35
Tabla 10. Propiedades de los AHs en estudio.....	37
Tabla 11. Asignación de las bandas de absorción de los espectros de infrarrojo	39
Tabla 12. Determinación del ζ de los AHs (AH-A y AH-T).....	43
Tabla 13. Determinación del ζ de los AHs con Ca^{2+} y Mg^{2+}	43
Tabla 14. Determinación del ζ de los AHs con Ca^{2+} y Mg^{2+} t = 10 min	47
Tabla 15. Determinación del ζ en las cinéticas de los AHs con Ca^{2+} y Mg^{2+}	48

ABREVIATURAS

A	Arena
AE	Análisis Elemental
AFs	Ácidos Fúlvicos
AH	Ácido Húmico
AH-A	Ácido Húmico de Atotonilco
AH-CH	Ácido Húmico Chemapex
AHs	Ácidos Húmicos
AH-T	Ácido Húmico de Tulancingo
Ar	Arcilla
CE	Conductividad eléctrica
COT	Carbono Orgánico Total
IRTF	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier
L	Limo
MO	Materia Orgánica
MOS	Materia Orgánica del Suelo
N	Nitrógeno
SA	Suelo de Atotonilco
SHs	Sustancias Húmicas
SRM	Suelo de Real del Monte
ST	Suelo de Tulancingo
UV/Vis	Espectroscopia ultravioleta visible

1. INTRODUCCIÓN

El problema de migración de diferentes sustancias contaminantes en los campos agrícolas se estudia tradicionalmente a través del muestreo periódico de suelo, agua y cultivo. Existen otras alternativas más avanzadas que permiten reducir costos de los análisis en campo y pronosticar el riesgo de contaminación del medio ambiente. Estos métodos están basados principalmente en utilizar compuestos orgánicos (Ácidos Húmicos) (que de hecho se encuentran en el mismo suelo o agua), y en utilizar técnicas y métodos analíticos junto con la ayuda de programas computacionales para elucidar el proceso de transporte, transferencia o movimiento de los contaminantes en sistemas ambientales.

Sin embargo, es importante que en estos estudios se considere la posibilidad de la agregación y la desagregación de los ácidos húmicos para mejorar la predicción del destino ambiental de los contaminantes, ya que la interacción de los agregados de AHs con los contaminantes influye de manera particular en su transporte, degradación y biodisponibilidad, o más aún, en la obstrucción de los poros de membranas empleadas en procesos de tratamiento de agua.

Por lo tanto, la finalidad de esta investigación fue evaluar el proceso de agregación y desagregación cinética de los AHs en presencia de iones: Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, simulando condiciones reales, y la dinámica de estas macromoléculas en los suelos. Asimismo y para lograr este objetivo, se realizó primeramente la obtención y caracterización de ácidos húmicos de diferente origen y con distinta cantidad de grupos funcionales.

2. ANTECEDENTES

2.1 EL SUELO

Existen diferentes definiciones de la palabra suelo, enfocadas a diversas disciplinas y en diferentes tiempos o momentos en que decidieron hacerla. Se han encontrado definiciones tan simples como:

- El suelo es, desde el punto de vista del agricultor, el sitio para ubicar sus semillas y producir sus cosechas.
- Para un geólogo podría ser el recubrimiento terroso que hay sobre un cuerpo rocoso.
- Para un ecólogo es uno de los componentes del ecosistema en estudio.

Además de las anteriores se han encontrado definiciones muchos más concretas y elaboradas como es el caso de Vilenskii (1957) citado por Boul et.al. (1997), en donde propone que el término suelo se utiliza para definir aquellos horizontes de la roca que continuamente cambian sus relaciones bajo la influencia conjunta del agua, el aire y distintas formas de organismos vivos y muertos. Después de analizar el sin número de definiciones encontradas, la que mejor se relaciona al trabajo realizado es la siguiente: El suelo es un sistema natural compuesto de sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos, gases y organismos vivos que han estado sometidos a la influencia de factores genéticos y ambientales; se caracteriza porque tiene horizontes o capas que lo diferencian del material inicial de formación (Jaramillo Jaramillo, 2002).

2.2 ORIGEN Y FORMACIÓN DEL SUELO.

En la formación del suelo, el punto de partida lo constituyen las rocas que se encuentran en la superficie terrestre (rocas ígneas y rocas sedimentarias), las cuales con el tiempo y un conjunto de procesos englobados en la meteorización son desintegradas y alteradas por diversos factores (Navarro, 2003).

La meteorización se realiza debido a la alteración de las rocas por factores de formación del suelo los cuales pueden ser el material parental, clima o los organismos vivos. Ya que el suelo cambia con el tiempo y se someten a un proceso de evolución frecuentemente, al tiempo también se le conoce como un factor de formación (Hans, 1941).

2.3 PERFIL DEL SUELO

Los suelos desarrollan distintas capas a diferentes profundidades. Si se realiza un corte vertical conocido como perfil del suelo, se pueden apreciar estas capas (Casanova, 2005).

Los horizontes del suelo son estratos horizontales que se desarrollan en el interior del mismo y presentan diferentes características físicas (Jaramillo Jaramillo, 2002).

La División de los Horizontes del Suelo, por sus siglas en inglés **SSD** (Soil Survey Division) (Staff, 1993), define 6 horizontes o capas en el suelo, los cuales se simbolizan con las letras mayúsculas: O, A, E, B, C y R.

La SSD comprende tres horizontes principales, designados con letras mayúsculas: A, B y C (Figura 1).

- **Horizonte A.** Formado por el suelo artificial, en él se encuentra la mayor parte de materia orgánica. Presenta color oscuro y es el más expuesto a los agentes climáticos.
- **Horizonte B.** Es la capa intermedia de color más claro, en él se sitúan las raíces de arbustos y árboles, el contenido de materia orgánica es menor.
- **Horizonte C.** Comprende la capa más profunda del perfil, formado por partículas de roca poco desmenuzada.

Los horizontes O, E y R son capas que se encuentran en los extremos de los suelos.

Según la madurez de los suelos se puede o no apreciar la diferencia entre cada horizonte. Los suelos más maduros siempre presentan clara diferencia en cada uno de sus horizontes, en cambio en los suelos jóvenes solo se puede ver una ligera capa oscura en la parte superficial y algunas veces se puede apreciar el horizonte A y C (Navarro, 2003).



Figura 1. Esquema de un perfil de suelo.

2.4 COMPONENTES DEL SUELO

Considerando al suelo como un sistema heterogéneo, disperso y poroso constituido por tres fases (sólida, líquida y gaseosa), se pueden distinguir cuatro grandes componentes: materia mineral, materia orgánica, agua y aire (Navarro, 2003).

Las tres fases se constituyen de la siguiente manera:

- **Fase sólida.** Materia inorgánica y orgánica.
- **Fase líquida.** Agua.
- **Fase gaseosa.** Aire y vapor de agua.

Se asigna a la fase sólida un valor de 50% del volumen del suelo, repartido en 45% de componente mineral y 5% de componente orgánico; el volumen restante se reparte en cantidades iguales entre las fases líquida y gaseosa (Jaramillo Jaramillo, 2002).

2.5 TEXTURA DEL SUELO

En el suelo existen partículas gruesas que constituyen las llamadas fracciones gruesas: piedras, grava y arena; y otras partículas de menor tamaño que constituyen las fracciones finas: limos y arcillas.

El tamaño relativo de las partículas del suelo se expresa mediante el término textura, que se refiere al grado de finura o grosor de la misma. Más específicamente la textura es la proporción relativa de arena (A), limo (L) y arcilla (Ar) (Aguilera-Herrero, 1989). El contenido de estas tres fracciones minerales permite clasificar a los suelos texturalmente utilizando el triángulo de textura (Figura 2). Dicho triángulo está dividido en doce áreas en las cuales están representadas todas las posibles porciones de arena, limo y arcilla.

Las doce clases texturales se pueden representar en tres grupos de suelos:

1. **Arenosos.** La arena representa más del 70% de la fracción sólida del suelo. En este grupo se reconocen las texturas arenosa y franco-arenosa.
2. **Arcillosos.** Poseen mínimo 35% de arcillas y en la mayoría de los casos más del 40%. Las texturas típicas son arcillo-arenoso, arcillo-limoso y arcilloso.
3. **Francos.** Un suelo franco puede ser definido como una mezcla de arena, limo y arcilla (Casanova Olivo, 2005).

La suma de los porcentajes de A, L y Ar en cualquier punto del triángulo es 100%.

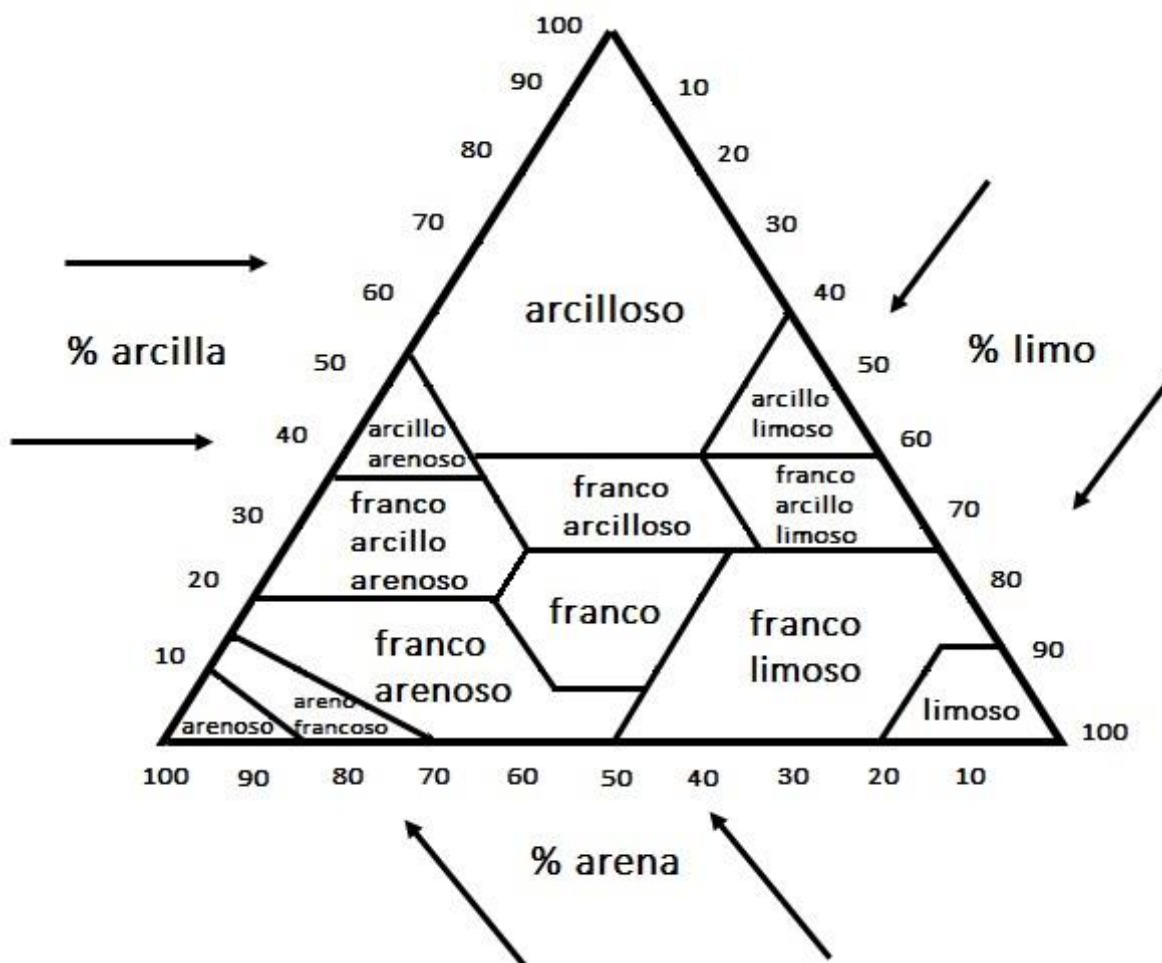


Figura 2. Triángulo de texturas (Casanova Olivo, 2005).

2.6 MINERALES (MATERIAL INORGÁNICO)

Los principales componentes inorgánicos del suelo comprenden desde coloides diminutos como arcilla y limo ($<2\mu\text{m}$) hasta partículas grandes de grava o arena ($>2\text{mm}$). Estos componentes se presentan en compuestos de estructura cristalina llamados minerales. Un mineral es un sólido natural inorgánico que presenta una estructura interna ordenada y una composición química definida (Bohn, McNeal y O'connor, 1993).

Los minerales de las rocas se conocen como minerales primarios y estos al ser alterados forman minerales secundarios.

2.6.1 MINERALES PRIMARIOS

Son minerales que se encuentran principalmente en las fracciones más gruesas del suelo, arena y limo. Se trata de minerales que no han sufrido cambios químicos desde su formación inicial de la lava fundida (Fassbender y Bornemisza, 1987).

Los minerales primarios son constituyentes principalmente de las rocas ígneas y/o metamórficas; más del 90% de los minerales que integran estas rocas son silicatos, es decir que están compuestos por silicio, oxígeno y uno o más metales (Casanova Olivo, 2005).

Como ya se mencionó los principales grupos de minerales primarios corresponden a silicatos, aunque también se presentan óxidos, hidróxidos, carbonatos, sulfatos, sulfuros y fosfatos (Jaramillo Jaramillo, 2002).

2.6.2 MINERALES SECUNDARIOS

Los minerales secundarios son aquellos que se forman bajo las condiciones de presión y temperatura que se encuentran sobre la superficie de la tierra y también a través de la meteorización de otros minerales existentes (minerales primarios) (Casanova Olivo, 2005). En los suelos se presentan esencialmente en la fracción del tamaño de la arcilla.

Los minerales secundarios principales de dicha fracción arcillosa del suelo corresponden a filosilicatos y óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio, aunque en algunos grupos de suelos son importantes otros componentes como los aluminosilicatos y/o los óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio no cristalinos (conocidos también como “amorfos”) (Jaramillo Jaramillo 2002).

2.7 MATERIA ORGÁNICA

La materia orgánica del suelo (MOS) es una acumulación de materia de plantas muertas, parcialmente descompuestas y residuos de animales y plantas, sintetizados parcialmente (biomasa vegetal y animal). Los residuos de cultivos, maleza, hierba, hojas de árboles, gusanos, bacterias, hongos y actinomicetos también forman parte de la mezcla compleja de MOS. (Bohn, McNeal y

O'Connor, 1993). Este material se encuentra en un estado de descomposición activo, estando sujeto al ataque continuo de los microorganismos del suelo. Por lo que la permanencia de este material en el suelo es transitoria y está siendo renovada continuamente (Ortega, 1981).

A medida que aumenta la cantidad de residuos orgánicos agregados a los suelos hay un aumento en el contenido de MO.

El porcentaje de MO varía según la zona, por ejemplo en zonas frías y templadas el porcentaje de materia orgánica es alto, en regiones tropicales es menos elevado y resulta muy bajo en zonas áridas y semiáridas. Estos contenidos se evalúan de la siguiente manera (Aguilera Herrero, 1989).

Tabla 1. Porcentaje de Materia Orgánica (Aguilera Herrero, 1989).

Cantidad	Porcentaje (%)
Muy baja	0.0 – 0.2
Baja	0.8 – 2.0
Media	2.0 – 4.0
Media alta	4.0 – 8.0
Alta	8.0 – 15.0
Muy alta	15.0 – 30.0
Fuertemente alta	>30

2.7.1 COMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA

La MO contiene un sinnúmero de componentes cuyos porcentajes varían de acuerdo con la clase de residuos (plantas y animales) y de su estado de descomposición (Cepeda Dovala, 1991). Dichos componentes se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Componentes químicos de la Materia Orgánica del suelo (Navarro, 2003).

Componentes Químicos	Ejemplos
<i>Carbohidratos</i>	Monosacáridos, oligosacáridos, polisacáridos
<i>Lípidos</i>	Grasa y aceites, ceras, ácidos esenciales
<i>Compuestos nitrogenados</i>	Proteínas, aminoácidos, aminas y bases orgánicas, Alcaloides, purinas, pirimidinas, ácidos nucleicos
<i>Pigmentos</i>	Clorofilas, carotenoides, antocianinas
<i>Ligninas</i>	Polímeros derivados del fenilpropano
<i>Taninos</i>	Complejos fenólicos
<i>Glucósidos</i>	Compuestos glucosa+alcohol, fenol o aldehídos
<i>Ácidos orgánicos</i>	Ácidos oxálico, cítrico, málico
<i>Resinas</i>	Ácidos resínicos

2.8 HUMUS

Se denomina humus al conjunto de compuestos orgánicos amorfos, poliméricos, de alto peso molecular y de color amarillo hasta gris oscuro o casi negro, que se acumulan en el suelo como consecuencia de su resistencia a la transformación (Jaramillo Jaramillo, 2002).

Forman parte del humus compuestos que son difícilmente atacados por los microorganismos como la lignina, grasas, ceras, hidratos de carbono y componentes proteicos, que convertidos en polímeros resultan difíciles de definir químicamente (Cepeda Dovala, 1991).

La humificación consiste en un conjunto de procesos que transforman la MO en compuestos que tienen una alta capacidad de absorción de la luz visible y altos contenidos de grupos orgánicos carbonilo y carboxilo (Jaramillo Jaramillo, 2002). Comienza en los tejidos de descomposición, primero los tejidos celulósicos son destruidos posteriormente los tejidos lignificados son descompuestos, originando compuestos solubles que se precipitan con los ácidos, comparables con los ácidos húmicos (AHs) (Navarro, 2003).

Existen dos tipos de humificación:

- **Humificación biológica.** Proceso que caracteriza a los suelos ricos en bases, que gozan de buena aireación, presencia de lombrices, pH elevado y actividad microbiana alta. Se caracteriza por la degradación activa de la lignina y de la celulosa.
- **Humificación abiológica.** Mecanismo en el cual la actividad biológica disminuye motivada por un factor ecológico (vegetación ácida), local (hidromorfismo) o geológico (roca madre muy ácida). Este tipo de humificación es muy lento y produce sustancias poco polimerizadas y solubles en agua (Cepeda Dovala, 1991).

2.8.1 PROPIEDADES GENERALES DEL HUMUS

La mayoría de las propiedades coloidales de la MOS se debe al humus. El humus es altamente coloidal y también amorfo no cristalino. Su área superficial y su capacidad de adsorción son mayores que la de los minerales de silicatos laminares (Tabla 3).

Se ha convenido de manera general que la carga negativa del humus se debe a la disociación del H⁺ de los grupos funcionales. En el humus toda la carga depende fuertemente del pH (Bohn, McNeal y O'connor, 1993).

Tabla 3. Propiedades generales del humus y sus efectos en el suelo (Bohn, McNeal y O'connor, 1993).

Propiedad	Observaciones	Efectos en el suelo
<i>Color</i>	El color oscuro típico de muchos suelos lo origina la MO	Puede facilitar el calentamiento
<i>Retención de agua</i>	La MO puede retener hasta 20 veces su peso de agua	Ayuda a evitar la desecación y la contracción; mejora la retención de la humedad en suelos arenosos
<i>Combinación con minerales arcillosos</i>	Enlaza las partículas del suelo en unidades estructurales llamadas agregados	Permite el intercambio de gas; estabiliza la estructura; incrementa la permeabilidad
<i>Quelación</i>	Forma complejos estables con Cu ²⁺ , Mg ²⁺ y Zn ²⁺ y otros cationes polivalentes	Amortiguador del aprovechamiento de elementos traza que son captados por las plantas

Tabla 3. Propiedades generales del humus y sus efectos en el suelo (Bohn, McNeal y O'connor, 1993) (Continuación).

Propiedad	Observaciones	Efectos en el suelo
<i>Solubilidad en agua</i>	La insolubilidad en la MO es resultado parcial de sus asociación con la arcilla; las sales de cationes divalentes y trivalentes en combinación con la MO también son insolubles; la MO aislada es parcialmente soluble en agua	La MO en pequeñas cantidades se pierde por lixiviación
<i>Relaciones con el pH</i>	La MO amortigua el pH del suelo en los límites entre ligeramente ácido, neutralidad y alcalino	Ayuda a mantener una reacción uniforme (pH) en el suelo
<i>Intercambio catiónico</i>	La acidez total de las fracciones aisladas de humus varía en 3000 y 14000 mmoles kg ⁻¹	Incrementa la capacidad de intercambio catiónico (CIC) del suelo, del 20 al 70% de la CIC de muchos suelos se debe a la MO
<i>Mineralización</i>	La descomposición de la MO produce CO ₂ , NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ y SO ₄ ²⁻	Fuente de elementos nutritivos para el crecimiento de las plantas
<i>Combinación con moléculas orgánicas</i>	Influye en la bioactividad, persistencia y biodegradabilidad de los plaguicidas	Modifica la relación de aplicación de los plaguicidas para un control efectivo

2.8.2 FORMACIÓN Y COMPONENTES ORGÁNICOS DEL HUMUS

Existen cuatro mecanismos teóricos propuestos acerca del proceso de formación del humus también conocido como sustancias húmicas (SHs) (Figura 3). En cada uno de ellos interviene una serie de procesos interrelacionados y una gran diversidad de reacciones químicas, en donde es posible observar que la formación de estas sustancias puede deberse a diversos mecanismos de reacción, a pesar de que la mayoría de los investigadores están a favor del mecanismo basado en la condensación de compuestos fenólicos y quinonas (Figura 3) (Kononova, 1982).

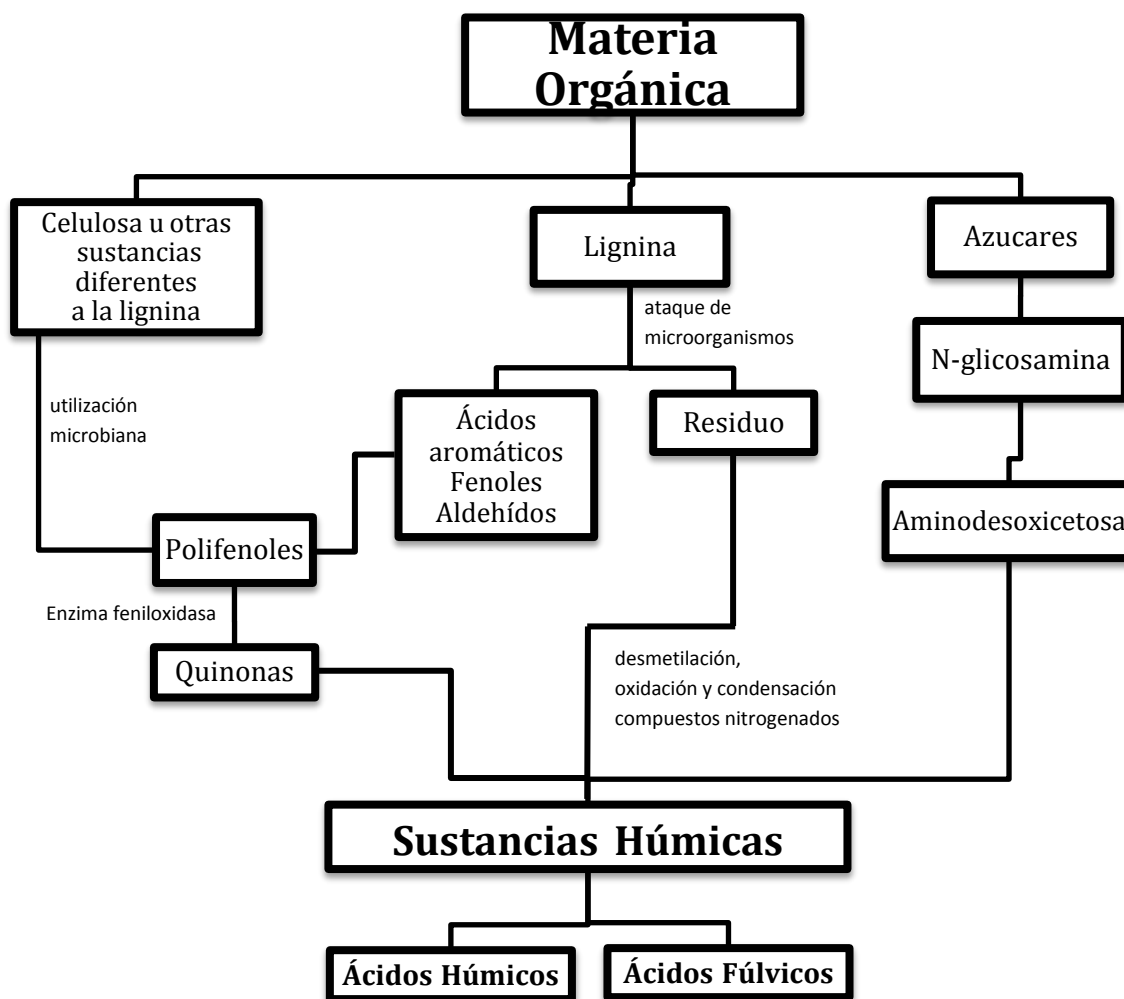


Figura 3. Proceso de formación de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos.

Las SHs presentan una estructura extremadamente compleja: se comportan como un continuo donde posiblemente no hay dos macromoléculas exactamente iguales. En general los contenidos de SHs, según el tipo de suelo, varían entre 33% y 75% del total de MOS, aunque esto difiere según el tipo de suelo y la profundidad en el perfil del mismo (Lizcano, 2011). Pueden ser clasificadas operacionalmente en términos de sus propiedades solubles en AHs que son extraídos de los suelos con soluciones alcalinas y convertidos en precipitados insolubles tras la acidificación; ácidos fúlvicos (AFs) solubles tanto en soluciones ácidas como alcalinas, y en huminas que es la MO en los residuos alcalinos (Almendros, 2008).

2.9 LOS ÁCIDOS HÚMICOS

Los AHs se forman por la decadencia y transformación de residuos de plantas y microorganismos (biomasa vegetal y animal), llevándose a cabo una serie de reacciones químicas y bioquímicas que en conjunto reciben el nombre de “proceso de humificación”. Estos ácidos se definen como macromoléculas o supramoléculas orgánicas y están formadas por un esqueleto de grupos aromáticos mientras que en su exterior están constituidos por ramificaciones de cadenas alifáticas con una gran cantidad y variedad de grupos funcionales, principalmente grupos fenólicos y carboxílicos (-OH, -COOH). Es debido al gran número de grupos funcionales que los AHs pueden interactuar con todo tipo de iones o moléculas orgánicas, y de esta forma movilizar contaminantes orgánicos y permitir la biodisponibilidad de los iones metálicos (Nieto, Páez y Sierra, 2014). Por otro lado, es importante mencionar que hasta este momento no se tiene una estructura definida y/o establecida de los AHs. La literatura consultada reporta que es más importante identificar y cuantificar los grupos funcionales principales (OH, COOH, C=O, NH₂), porque son los responsables de las interacciones moleculares con los iones (Figura 4) (Stevenson, 1982). La estructura hipotética de los AHs (Figura 5) está compuesta en gran medida por anillos aromáticos unidos entre sí y a otras estructuras de carácter alifático. En el esqueleto que forman los AHs la mayor parte del oxígeno se encuentra formando parte del núcleo o estructura central haciendo uniones éter o éster (Schulteh y Schnitzer, 1993).

Los AHs son compuestos de alto peso molecular, baja acidez (entre 500 y 870 meq/100g), alto grado de polimerización y solubles en medio alcalino, pero precipitan en medio ácido. Por poseer elevado peso molecular, tienen una serie de propiedades relacionadas con el estado coloidal muy diferentes a las los AFs; por ende, su poder de retención de agua y su capacidad de intercambio catiónico son mayores (Lizcano, 2011).

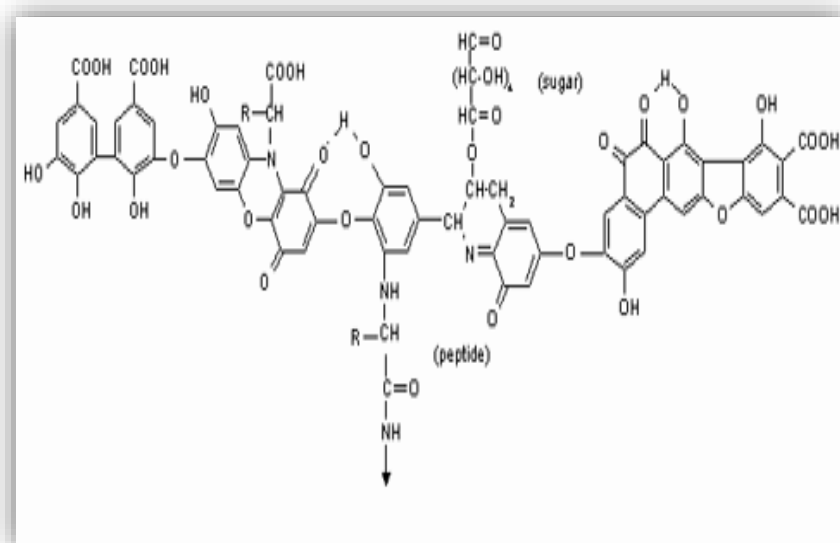


Figura 4. Modelo hipotético de un Ácido Húmico propuesto por Stevenson 1982.

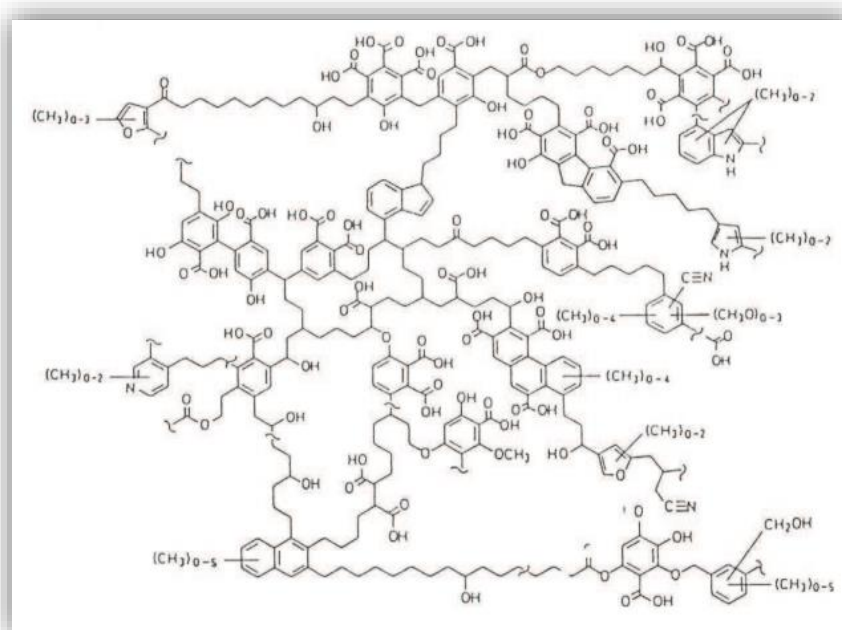


Figura 5. Estructura hipotética de un Ácido Húmico (Schulteh y Schnitzer, 1993).

2.9.1 APLICACIONES DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS

Los AHs tienen amplias aplicaciones en diferentes áreas como en la medicina, donde se han utilizado para cuestiones terapéuticas, como antisépticos y además se ha divulgado su actividad como antiinflamatorios. En agronomía se utilizan como abono orgánico cuya aportación al suelo incrementa su fertilidad (mejorando la relación agua-aire, su textura, la porosidad, la cantidad de

nutrientes y disminuyendo la erosión ocasionada por el agua y el viento) y por lo tanto, su productividad. En química o ingeniería ambiental se han utilizado como compuestos poliméricos para la composición de membranas en la construcción de electrodos selectivos de iones, como compuestos adsorbentes de contaminantes y en la formación de hidrogeles. En los campos de la industria se utilizan como aditivo de cemento y cerámicos, en los cosméticos como faciales, entre otras aplicaciones.

2.9.2 ESTUDIO DE CINÉTICAS DE AGREGACIÓN DEL AH EN PRESENCIA DE IONES MULTIVALENTES.

En la actualidad se han realizado diferentes estudios sobre la interacción de los AHs con iones metálicos, obteniendo una mayor información del comportamiento estructural y la reactividad que estas macromoléculas presentan en sistemas ambientales. Sin embargo, hay escasa literatura que evalúe su interacción con iones multivalentes.

Las SHs, como lo son los AHs y AFs, desempeñan papeles relevantes en el medio ambiente. Dichas sustancias son muy activas en la unión de iones, moléculas orgánicas y superficies sólidas, por lo tanto afectan significativamente la estructura del suelo, la movilidad de los contaminantes orgánicos y la biodisponibilidad de los iones metálicos (Kloster, et. al., 2013).

Los AHs presentan una afinidad mayor a los metales en comparación con los suelos, esto debido a su porcentaje alto de CO, así como a su capacidad de intercambio catiónico. Además, su estructura contiene gran cantidad de grupos funcionales como los grupos carboxílicos, fenólicos y alcohólicos, los cuales forman complejos más estables en su esfera exterior a través de interacciones electrostáticas y con su esfera interior para la retención e inmovilización de los metales (Cortés Páez, et. al., 2014).

Los AHs son capaces de formar agregados en medios acuosos o en el estado sólido (Figura 7). Estos agregados se estabilizan mediante interacciones hidrófobas, enlaces de hidrógeno y por la presencia de iones metálicos, como el Ca (II), Fe (III) o Al (III) (Figura 6). La caracterización de los AHs se centra principalmente en las interacciones intramoleculares, factores que promueven la agregación y mecanismos de agregación.

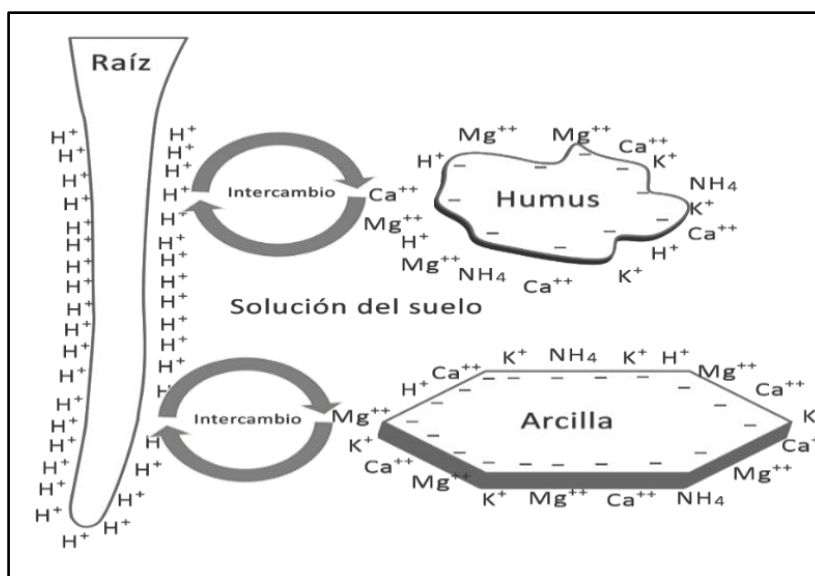


Figura 6. Intercambio de metales entre humus y las plantas (Payeras, 2011)

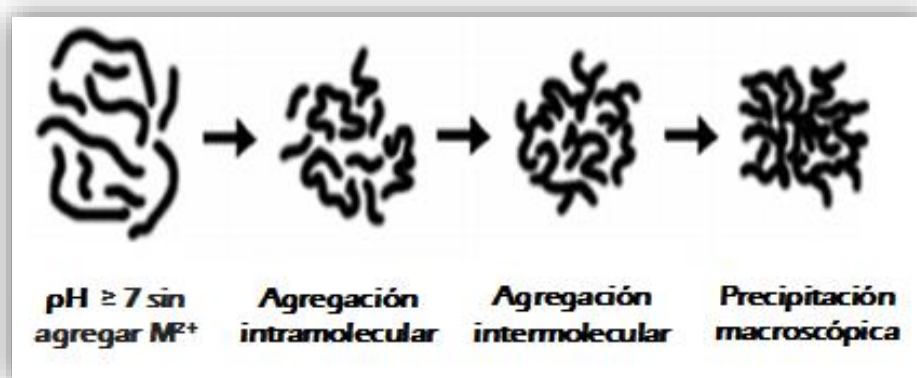


Figura 7. Formación de los coloides en la interacción de AH-Metal (Wandruska, 2000).

La agregación de AHs es el resultado de interacciones moleculares que dependen de condiciones ambientales tales como pH, fuerza iónica, presencia de iones metálicos multivalentes, compuestos orgánicos y partículas sólidas. En presencia de cationes multivalentes la agregación se promueve a través de la neutralización de carga y la formación de puente de cationes entre diferentes moléculas de AHs (Kloster, et. al., 2013).

3. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que se cuenta con información acerca de la agregación de los ácidos húmicos en presencia de diferentes iones metálicos, las diferencias en cuanto a la composición molecular de los AHs dependiendo de su origen, hacen necesario el estudio continuo de su comportamiento químico. Aunado a esto, esta línea de investigación ha sido poco explorada a pesar de que los AHs se han estudiado desde hace más de doscientos años.

Por lo anterior, en el presente trabajo de investigación se llevó a cabo la caracterización y el análisis de ácidos húmicos obtenidos de suelos con diferente origen y grado de humificación, para el estudio de su agregación con diferentes iones metálicos. Con ello se pretende contribuir al conocimiento del comportamiento de estas macromoléculas y al desarrollo de esta línea de investigación en el país.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar y caracterizar a los AHs (extraídos de muestras de suelo caracterizadas y un AH comercial) por diferentes técnicas analíticas, así como evaluar su agregación en presencia de iones multivalentes (Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺), para contribuir a la comprensión de los mecanismos de biodisponibilidad en sistemas ambientales.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar fisicoquímicamente muestras de suelo (%COT, %MO, %N, pH, conductividad, textura y concentración de Fe), para determinar el rendimiento en la extracción de AHs.
- Extraer y purificar AHs de muestras de suelo del estado de Hidalgo, utilizando como agentes extractantes Na₂P₂O₇ • 10H₂O e NaOH.
- Evaluar las propiedades fisicoquímicas de los AHs mediante diferentes técnicas instrumentales y por vía húmeda (AE, UV/Vis, IRTF, acidez total, grupos –OH y –COOH, cenizas).
- Analizar y evaluar el efecto del tiempo en la floculación de AHs en presencia de iones Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺, mediante potencial zeta (ζ).
- Comparar los valores de ζ encontrados, con los mecanismos de biodisponibilidad reportados en la literatura (atrapamiento, remoción y transporte de iones metálicos por los AHs).

5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

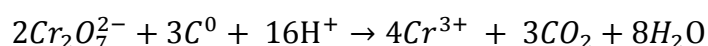
En la siguiente sección se describen los diferentes métodos y técnicas analíticas utilizadas en este estudio para la caracterización y comparación de tres diferentes muestras de suelos utilizados en la extracción de los AHs. También se describe el método analítico utilizado para la extracción de AHs de las muestras de suelos de estudio y las técnicas analíticas para su caracterización. Finalmente se hace referencia al procedimiento que se llevó a cabo para observar el comportamiento de los AHs con los metales de estudio (Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺).

5.1 OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SUELO

Se muestrearon tres sitios del estado de Hidalgo (Atotonilco SA, Tulancingo ST y Real del Monte SRM) escarbando de 20 a 30 cm de profundidad (horizonte A). Son suelos de lugares boscosos no contaminados, con constante degradación o transformación de biomasa vegetal y animal. Las muestras obtenidas se secaron en la estufa a una temperatura de 60 °C durante 24 h; posteriormente se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de 1.0 y 2.0 mm y se colocaron en recipientes limpios y herméticos. Las tres muestras de suelo se caracterizaron con los métodos que se mencionan a continuación para una comparación efectiva.

5.2 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE: CARBONO ORGÁNICO TOTAL (COT), MATERIA ORGÁNICA (MO) Y NITRÓGENO (N)

La cuantificación de materia orgánica en suelo, agua, sedimentos y durante las diferentes etapas de extracción de las SHs, se obtiene a partir del contenido de COT con el método de Walkley y Black (1979) descrito por García y Ballesteros (2005). El análisis consiste en la oxidación de carbono con dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) en un medio fuertemente ácido hasta la formación de CO₂, según la siguiente ecuación química:



La cantidad de oxígeno utilizado para oxidar el carbono orgánico se determina por la diferencia entre la cantidad de K₂Cr₂O₇ requerido en la oxidación y la que

quedó después de ésta, es decir valorando el exceso de K₂Cr₂O₇ con una solución de sal de Mohr (sulfato ferroso amoniacal Fe(NH₄)₂ (SO₄)₂ • 6H₂O). Otro método por el cual también se puede cuantificar el COT es mediante una técnica espectroscópica (espectrofotómetro LAMDA 40) a una longitud de onda de 590 nm (García y Ballesteros, 2005).

5.2.1 DETERMINACIÓN DE COT POR UN MÉTODO VOLUMÉTRICO.

El COT se cuantificó por este método pesando 0.25 g de muestra de suelo preparado como se describió anteriormente. La muestra se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se le adicionó 5 mL de K₂Cr₂O₇ 0.17 M y 10 mL de H₂SO₄. La muestra se agitó durante un minuto evitando salpicaduras. Se dejó reposar durante 30 min en la campana de extracción; finalizando este tiempo se añadieron 2.5 mL de H₃PO₄ concentrado para evitar interferencias con Fe³⁺ y 1 a 2 gotas del indicador (difenilamina al 0.5% en ácido sulfúrico). Finalmente la mezcla se valoró con una disolución de Fe(NH₄)₂ (SO₄)₂ • 6H₂O 0.5 N gota a gota hasta un punto final de color verde brillante. Este procedimiento se realizó por triplicado. También se llevó a cabo un “blanco” (B) al cual se le adicionaron 5 mL de K₂Cr₂O₇ 0.17 M y 10 mL de H₂SO₄, 2.5 mL de H₃PO₄ concentrado y 1 a 2 gotas del indicador.

El porcentaje de COT se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$COT (\%) = \frac{(V_B - V_M)}{g \text{ (muestra)}} * N * 0.3 * 1.30 \quad (\text{Ecuación 1})$$

V_B = Volumen gastado de Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ • 6H₂O en el blanco

V_M = Volumen gastado de Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ • 6H₂O en la muestra

g = Cantidad en gramos de muestra de suelo

N = Normalidad de la solución de Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ • 6H₂O

0.3 = $100 * \frac{12}{4 * 1000}$ (PE del carbono)

1.30 = $100/77$ considerando que el 77% del carbono fue oxidado

5.2.2 DETERMINACIÓN DE COT POR UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

Para determinar el contenido de COT en las tres muestras de suelo, se colocaron 0.25 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente, se adicionaron 5 mL de K₂Cr₂O₇ 0.17 M y 10 mL de H₂SO₄ concentrado, se agitaron por 1 min y se dejó reposar por 30 min en la campana de extracción. Enseguida se completó el volumen a 100 mL con agua destilada, luego se dejó enfriar y reposar durante toda la noche. Finalmente se determinó la absorbancia a 590 nm en un espectrofotómetro. Este procedimiento se realizó por triplicado. También se llevó a cabo un “blanco” (B) al cual se le adicionó 5 mL de K₂Cr₂O₇ 0.17 M y 10 mL de H₂SO₄ y se completó el volumen a 100 mL con agua destilada.

Previamente se realizó una curva de calibración a partir de una solución madre de sacarosa al 5%, de la cual se tomaron alícuotas de 5, 10, 15, 20, 25 y 35 mL que se aforaron a 100 mL. De cada una de las soluciones preparadas se tomaron 2 mL, y se siguió el mismo procedimiento descrito para las muestras de suelo.

Se calculó el porcentaje de materia orgánica y nitrógeno a partir del porcentaje de COT (Islas Valdez, 2014; Nieto Velázquez, 2010).

$$COT(\%) = \frac{(A_B - A_M)}{m} * 0.3 * 1.30 \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$MO(\%) = COT * 1.724 \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$N(\%) = \frac{MO}{20} \quad (\text{Ecuación 3})$$

A_B = Absorbancia del blanco

A_M = Absorbancia de la muestra

m = Pendiente de la ecuación de la curva de calibración

$$0.3 = 100 * \frac{12}{4 * 1000} \quad (\text{PE del carbono})$$

$$1.30 = 100/77 \quad \text{considerando que el 77\% del carbono fue oxidado}$$

$$1.724 = 100/58 \quad \text{considerando que la MO contiene 58\% de CO}$$

5.3 DETERMINACIÓN DEL pH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

El pH, la conductividad eléctrica y la textura proporcionan una idea general de las propiedades fisicoquímicas del suelo. Son mediciones comunes e importantes en los análisis fisicoquímicos y rutinarios (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002) .

Con la determinación del pH es posible evaluar la acidez y la concentración de sales en la solución del suelo. No obstante, la conductividad eléctrica del extracto de saturación (CE) es uno de los índices más difundidos para evaluar la concentración salina.

5.3.1 DETERMINACIÓN DEL pH EN LA SOLUCIÓN DEL SUELO

Para determinar el pH en las tres muestras de suelo (SA, ST, SRM), se pesaron 10 g de muestra en un vaso de precipitado de 50 mL (se realizó por triplicado), se adicionó 20 mL de agua desionizada, se agitaron por 30 min y se dejaron reposar durante 15 min. Posteriormente se calibró el potenciómetro (CORNING pH/ion meter 450) con soluciones buffer de pH = 4.0, 7.0 y 10.0, enjuagando con agua desionizada el electrodo antes de iniciar las lecturas de las muestras. Se agitó nuevamente la suspensión y se introdujo el electrodo en dicha suspensión, se registró el valor arrojado una vez que se estabilizó la lectura.

5.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DEL EXTRACTO DE SATURACIÓN

En la determinación de la conductividad eléctrica se prepararon dos soluciones estándar de KCl para calibrar el equipo (CORNING Conductivity meter 441), una de concentración 0.01 N (la conductividad eléctrica de esta solución a 25°C es 1.412 dS m⁻¹) y otra de 0.1 N (la conductividad eléctrica de esta solución a 25°C es 12,900 dS m⁻¹).

A partir del extracto de saturación que se obtuvo en la determinación del pH se llevó a cabo una filtración, luego de la cual se registró la conductividad eléctrica

al filtrado. Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra de suelo.

5.4 DETERMINACIÓN DE TEXTURA DEL SUELO

El método para la determinación de textura se realiza por el procedimiento de Bouyoucos que define la proporción relativa de grupos dimensionales de partículas. La determinación de la textura del suelo consistió en pesar 60 g de muestra en un vaso de precipitado de 500 ml. A esta se le agregó 40 mL de agua oxigenada al 30% y calentó hasta sequedad; este paso se realizó dos veces para el SRM y ST, y cuatro veces para el SA hasta que no hubo efervescencia al agua oxigenada. Después de eliminar la materia orgánica y llevar a sequedad el suelo, se pesaron 50 g de muestra y se pusieron en un vaso de precipitado de 250 mL; posteriormente se adicionó agua hasta cubrir la superficie con una lámina de 2 cm, posteriormente se agregaron 5 mL de oxalato de sodio saturado (30 g de oxalato de sodio en 1 L de agua desionizada) y 5 ml de metasilicato de sodio (50 g de metasilicato de sodio en 1 litro de agua desionizada). La mezcla se dejó reposar 30 min. Las muestras se colocaron en tubos para el agitador mecánico por 5 min. El contenido se añadió en una probeta de 1000 mL, se agregó agua destilada hasta completar un litro y suspender el suelo con un agitador de mano operando durante un minuto, registrando las lecturas del hidrómetro a los 40 s y después a las 2 h de terminar la dispersión con el agitador magnético. Para hacer las lecturas se colocó el hidrómetro dentro de la probeta por 20 s antes del momento de la determinación, cuidando de no alterar la suspensión. Este procedimiento se realizó por triplicado.

Para obtener los porcentajes de A, L y Ar se corrigieron las lecturas del hidrómetro agregando 0.36 por cada grado arriba de 19.5 °C o restando la misma cantidad por cada grado abajo. Los porcentajes se obtuvieron con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Lectura } 40 \text{ s} * 2 = (\% \text{ arcilla} + \% \text{ limo}) \quad (\text{Ecuación } 4)$$

$$100 - (\% \text{ arcilla} * \% \text{ limo}) = \% \text{ arena} \quad (\text{Ecuación } 5)$$

$$\text{Lectura } 2h * 2 = \% \text{ arcilla} \quad (\text{Ecuación 6})$$

$$(\% \text{ arcilla} * \% \text{ limo}) - \% \text{ arcilla} = \% \text{ limo} \quad (\text{Ecuación 7})$$

Con los porcentajes de A, L y Ar se determinó la textura correspondiente en el triángulo de textura (Figura 2) (NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

5.5 DETERMINACIÓN DE Fe TOTAL EN LAS MUESTRAS DE SUELO POR ABSORCIÓN ATÓMICA

Para la determinación de Fe se pesaron 0.1 g de muestra (la determinación se realizó tres y seis veces para cada suelo), se les agregó 10 mL de HNO₃ concentrado y se llevaron a digestión en un equipo MARSx CEM y empleando el método EPA 3051. Este consistió en dos etapas: la primera etapa comprende una rampa de temperatura de 175°C y una presión 300 psi por 10 min y la segunda etapa involucra una rampa de temperatura de 180°C y una presión 300 psi por 10 min. Al término de la digestión, las muestras se filtraron y aforaron a un volumen final de 50 mL con HNO₃ al 3%. De esta disolución se realizaron diluciones consecutivas tomando 2.5 mL de muestra y aforando a 25 mL y después 10 mL de la nueva disolución y aforando a 25 mL con HNO₃ al 3%. Finalmente el Fe presente en las muestras diluidas y en los dos blancos se determinó en el espectrofotómetro de absorción atómica a una longitud de onda de 248.3 nm (Islas-Valdez, 2014).

5.6 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DEL AH PROVENIENTE DEL SUELO

Una muestra de suelo proveniente de Atotonilco el Grande, Real del Monte y Tulancingo se preparó mediante un proceso de secado y tamizado a un tamaño de partícula de 1.0 mm para la extracción de AHs. Se pesaron 15 g de suelo y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente se agregaron 120 mL de una solución de Na₂P₂O₇·10H₂O e NaOH (11.15 g de Na₂P₂O₇·10H₂O y 1 g de NaOH en 250 ml de solución) a pH ≈ 13; el matraz se selló perfectamente con una septa para evitar la entrada de CO₂ y se agitó durante 30 min. Después se dejó reposar toda la noche para finalmente filtrar utilizando papel filtro Whatman No. 42. Al filtrado obtenido se le añadió 2.5 mL HCl concentrado, se agitó cuidadosamente y se dejó reposar 40 min para observar la precipitación del AH. La mezcla se centrifugó a 2000 rpm durante

10 min, se decantó el sobrenadante y el resto se filtró a vacío utilizando membranas Millipore de tipo GVHP 0.2 µm. El sólido se secó en la estufa a una temperatura de 60°C durante 2 h aproximadamente; se retiró y se colocó en el desecador alrededor de 30 min y finalmente se pesó (Kononova, 1982).

5.7 CARACTERIZACIÓN DE LOS AHs EXTRAÍDOS DEL SUELO

En el siguiente apartado se describen los métodos y técnicas analíticas que se utilizaron en esta investigación para la caracterización de los AHs.

5.7.1 ANÁLISIS ELEMENTAL

El análisis elemental de los AHs se realizó para comparar si existe alguna variación en cuanto a sus propiedades y composición elemental (valores reportados: C 50-60%, O 30-40%, H 4-6%, N 1-6% y S 0.1 -0.5%).

Para la determinación de la composición elemental de las muestra de AH se pesaron 0.3 g de muestra y se utilizó un Analizador Elemental Serie II CHNS/O 2400 (Perkin Elmer), que permitió determinar los porcentajes totales de los componentes elementales (%C, %H, %N y por diferencia %O) y las relaciones: H/C y O/C con base en la relación de sus átomos.

5.7.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CENIZAS

Para la determinación del contenido de cenizas, se lavaron los crisoles y se colocaron en la mufla a 800 ° C (durante 2 h) hasta peso constante. Posteriormente se pesó 0.1 g de cada AH en los crisoles y se dejaron en la mufla a 900 °C durante 6 h. Finalmente los crisoles se colocaron en un desecador y se llevaron a peso constante. Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra de suelo.

5.7.3 ESPECTROSCOPIA UV/VIS

Para los estudios por espectroscopia se utilizó un equipo Perkin Elmer modelo Lambda 40. A partir de una solución madre de AH de 1000 ppm (10 mg de AH en 360 µL de NaOH en 10 mL de agua desionizada) se probaron diferentes diluciones para obtener el factor de dilución adecuado que permitieran obtener absorbancias adecuadas. Con el factor de dilución 1 en 100 se obtuvieron los

espectros de 200 a 700 nm, registrando las absorbancias a diferentes longitudes de onda (280, 465 y 665 nm) y determinando el coeficiente de absorptividad molar, utilizando la ecuación de Lambert-Beer:

$$\mathbf{Absorbancia = \epsilon c l \quad (Ecuación 8)}$$

ϵ : Coeficiente de absorptividad molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

c : Concentración con base en CO del AH

l : Longitud de la celda

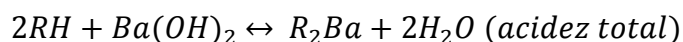
El porcentaje de aromaticidad y el peso molecular promedio de los AHs se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones (Chin, Alken, Loughlin, 1994):

$$\mathbf{Aromaticidad = 0.05\epsilon_{280} + 6.74 \quad (Ecuación 9)}$$

$$\mathbf{P.M. = 3.99\epsilon_{280} + 490 \quad (Ecuación 10)}$$

5.7.4 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TOTAL Y CANTIDAD DE GRUPOS CARBOXÍLICOS Y FENÓLICOS

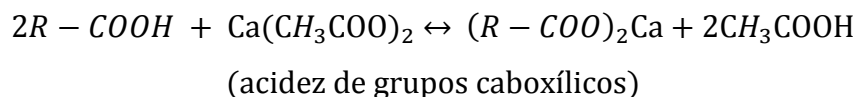
La presencia de grupos carboxílicos y fenólicos en los AHs determina las propiedades ácidas y la capacidad de intercambio iónico de dichos ácidos. La determinación de dichos grupos funcionales se realiza por titulaciones potenciométricas, ya sea empleando Ba(OH)₂·8H₂O (acidez total) o Ca(CH₃COO)₂·H₂O (acidez de grupos carboxílicos) (Ritchie y Perdue, 2003; Plaza, et. al., 2006) como valorantes llevándose a cabo las siguientes reacciones químicas:



R: Macromolécula

H: Protón intercambiable de los grupos ácido -COOH o de los grupos -OH de fenoles

El Ba(OH)₂ en exceso al final de la reacción es titulado con una solución de HCl.



El ácido acético Ca(CH₃COO)₂ liberado durante la reacción es titulado con una solución de NaOH.

La acidez total de los AHs, se determinó por el método Ba(OH)₂ (barita caustica) a pH > 13, llevando a cabo la titulación potenciométrica indirecta, basada en la disociación parcial de los protones (H⁺) de los grupos ácidos. Dicha prueba se realizó pesando 50 mg de AH seco y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL. Posteriormente se adicionaron exactamente 20 mL de Ba(OH)₂·8H₂O 0.2 N, se utilizó atmósfera de nitrógeno para favorecer las condiciones anaeróbicas. En seguida se tapó el matraz con una septa y se dejó en agitación durante 24 h a temperatura ambiente. Se filtró la suspensión. Finalmente se realizó la titulación potenciométrica del filtrado con una solución de HCl 0.5 N hasta pH = 8.4. Este procedimiento se realizó por triplicado. También se llevó a cabo un “blanco” (B) al cual se le adicionaron exactamente 20 mL de Ba(OH)₂·8H₂O 0.2 N.

La acidez total fue calculada tomando en cuenta la correlación del volumen de ácido en función de la cantidad consumida por el blanco; se utilizó la siguiente ecuación:

$$AT = \frac{(V_b - V_m) \cdot N \cdot 1000}{mg_{muestra}} \quad (\text{Ecuación 11})$$

V_b : Volumen gastado de HCl en el blanco

V_m : Volumen gastado de HCl en la muestra

N : Normalidad del ácido

Para la determinación de grupos carboxílicos se utilizó el método de Ca(CH₃COO)₂ basándose en el intercambio de (H⁺) del AH y formando ácido acético, al cual se le realizó una titulación potenciométrica como a continuación se describe. Se pesaron 50 mg de AH seco y se colocó en un matraz

Erlenmeyer de 125 mL. Enseguida se adicionaron exactamente 10 mL de Ca(CH₃COO)₂•H₂O 1 N y 40 mL de H₂O destilada libre de CO₂. Se tapó el matraz con una septa y dejar en agitación durante 24 h a temperatura ambiente. Se filtró. Finalmente se realizó la titulación potenciométrica del filtrado con una solución de NaOH 0.1 N hasta pH de 9.8. Este procedimiento se realizó por triplicado. También se llevó a cabo un “blanco” (B) al cual se le adicionaron exactamente exactamente 10 mL de Ca(CH₃COO)₂•H₂O 1 N y 40 mL de H₂O destilada libre de CO₂.

La cantidad de grupos carboxílicos se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$meqg^{-1}COOH = \frac{(V_m - V_b) * N * 1000}{mg_{muestra}} \quad (\text{Ecuación 12})$$

V_m : Volumen gastado de NaOH en la muestra

V_b : Volumen gastado de NaOH en el blanco

N : Normalidad de la base

La cantidad de grupos hidroxilos fenólicos fue calculada por diferencia entre la acidez total y la acidez de los grupos carboxílicos.

$$meqg^{-1}OH = AT - meqg^{-1}COOH \quad (\text{Ecuación 13})$$

5.7.5 ESPECTROSCOPIA DE IRTF

Esta técnica se basa en la determinación de bandas de absorción características en la región del infrarrojo, lo que está relacionado con las vibraciones moleculares de los grupos funcionales de los AHs, sin alterar su composición química. Es importante señalar que las bandas de absorción son monótonas sin máximos y mínimos pronunciados, lo que se atribuye a su alto peso molecular y heterogeneidad de la molécula.

Los espectros de IRTF fueron obtenidos en un espectrofotómetro (Perkin Elmer modelo Spectrum GX), preparando pastillas con 2.0 mg de muestra en 200 mg

de KBr y utilizando el intervalo de número de onda comprendido de 4000 a 400 cm⁻¹.

5.8 ESTUDIO DE LAS CINÉTICAS DE INTERACCIÓN DE AHS EN PRESENCIA DE IONES MULTIVALENTES

Para llevar a cabo la evaluación de la agregación del AH al interaccionar con Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ se trabajó con el ácido húmico extraído del suelo de Atotonilco (AH-A) y con el ácido húmico extraído del suelo de Tulancingo (AH-T), así como un ácido húmico comercial (AH-CH), a partir de los cuales, se prepararon soluciones madre de 1000 ppm. En este estudio se determinó el potencial Zeta (ζ) de los AHs a una concentración de 50 ppm a diferentes intervalos de pH = 3, 5, 7, 8 y 11; utilizando un equipo Malvern modelo Zetasizer nano series, entre cada lectura se dejó estabilizar la muestra durante 10 min. Posteriormente, se prepararon soluciones de AH-A (50 ppm) con cada una de las sales de metal (NaCl, CaCl₂ y MgSO₄) variando la concentración desde 3, 5, 10 y 15 mM, midiendo el valor del ζ y entre cada lectura se dejó estabilizar la muestra durante un tiempo de 10 min. No obstante, una vez que se evaluó el efecto del pH y la concentración de las sales de los metales de estudio, se prosiguió a realizar las cinéticas de interacción con valores de estos dos parámetros más específicos y reales en los sistemas ambientales (suelo y agua).

Se prepararon tres soluciones con 50 ppm del AH, 15 mM de NaCl como electrolito soporte y se evaluaron diferentes concentraciones de la sal del metal bivalente (Ca²⁺ y Mg²⁺) a 1, 2 y 3 mM ajustando el pH a 5 y 7, se dejaron en reposo aproximadamente 16 h y se obtuvo el ζ . Finalmente, se evaluó las cinética de agregación con soluciones de 50 ppm de AH, a una concentración primero de 1 mM y después se cambió a 3.5 mM de cada sal del metal (Ca²⁺ y Mg²⁺), ajustando el pH a 5 y posteriormente a 7. Las muestras se analizaron cada 10 min durante un período de 1 h (Kloster, et. al., 2013).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE: CARBONO ORGÁNICO TOTAL (COT), MATERIA ORGÁNICA (MO) Y NITRÓGENO (N)

En la determinación de los porcentajes de COT y MO descritas anteriormente y obteniendo los resultados que se presentan en la siguiente tabla (Tabla 4), se puede observar que el mayor porcentaje en ambos parámetros y por los dos métodos utilizados corresponden al SA comparado con el ST y el SRM. Sin embargo, en los resultados obtenidos por ambas técnicas (por vía húmeda y espectrofotométrica) del ST y SRM difieren entre sí, en particular los datos del SRM. Es importante mencionar que al realizar los experimentos correspondientes utilizando los dos métodos por valoraciones y espectrofotometría se pudo observar que el método espectroscópico es más reproducible y estable.

Tabla 4. Determinación del %COT, %MO y %N por volumetría y espectroscopia.

Muestra	Volumetría			Espectroscopia		
	%COT	%MO	%N	%COT	%MO	%N
SA	1.26 _(3.28)	2.17	0.109	1.69 _(2.45)	2.91	0.145
ST	0.57 _(4.79)	0.98	0.049	0.67 _(4.68)	1.16	0.058
SRM	0.39 _(4.71)	0.67	0.034	0.96 _(5.57)	1.66	0.083

(entre paréntesis %DSR de diez análisis)

Los porcentajes de nitrógeno analizados en las muestras de suelo están relacionados con el %MO, obteniendo su valor con la ecuación 4. Por otro lado, al llevar a cabo una comparación del %N en las tres muestras de suelo como se puede observar en la Tabla 4; el SA es el que presenta mayores valores por los dos métodos utilizados, lo que puede deberse a que proviene de un lugar con constante degradación de biomasa vegetales y animal. No obstante este nitrógeno está formando firmes enlaces químicos en las macromoléculas del humus. Así, en lo que respecta a los tres suelos en estudio, el SA presenta un mayor porcentaje de COT y MO en comparación con las otras dos muestras. Sin embargo son parámetros de referencia muy importantes para la obtención de AHs sin dejar a un lado diversos factores como el clima, biomasa vegetal y

animal, grado de humificación, entre otros. También influyen en la obtención de estos compuestos con gran cantidad y variedad de grupos funcionales, principalmente grupos carboxílicos e hidróxidos fenólicos.

6.2 DETERMINACIÓN DEL pH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

El pH es una de las mediciones más comunes e importantes en los análisis químicos rutinarios de suelo, ya que controla reacciones químicas y biológicas. La determinación del pH es afectada por diversos factores como el tipo y cantidad de sustancias orgánicas e inorgánicas que contribuyen a la acidez de la muestra, la concentración de sales en la solución, la relación suelo: solución, la presión parcial de dióxido de carbono, etc. Por otra parte, la conductividad eléctrica está relacionada con el extracto de saturación y depende de la concentración total de iones presentes en el agua, de la movilidad de cada uno de los iones disueltos, su valencia y de la temperatura a la que se llevó a cabo la determinación.

En la Tabla 5 se presentan los resultados de pH y de la conductividad eléctrica de los suelos en estudio.

Tabla 5. Determinación del pH y Conductividad.

Muestra	pH	Categoría	Conductividad (dS/m)
SA	6.57 _(2.11)	Moderadamente ácido	0.320
ST	7.04 _(0.68)	Neutro	0.151
SRM	5.97 _(2.22)	Moderadamente ácido	0.278

(entre paréntesis %DSR tres análisis SA y seis análisis ST y SRM)

Respecto a los valores obtenidos se puede observar que el pH es moderadamente ácido para el SA y SRM y neutro para el ST. Estos valores están en el intervalo de 6 a 7 (con poca diferencia el SRM), que es el más adecuado para la asimilación de nutrientes por parte de los cultivos. No obstante, los microorganismos del suelo proliferan con valores de pH medios y altos, reduciendo su actividad con un pH inferior. Con base a los resultados obtenidos y analizando estos parámetros es posible concluir que son suelos con un comportamiento estable lo cual se corrobora con la conductividad

eléctrica que presentan (< 1.0), es decir sus efectos de salinidad son despreciables.

6.3 DETERMINACIÓN DE TEXTURA DEL SUELO

Por otro lado, se determinó la textura como otro indicador importante en su caracterización física, proporcionando mayor información para establecer qué tipo de suelo es el conveniente y adecuado para obtener un mayor rendimiento y calidad de los AHs. En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos:

Tabla 6. Determinación de textura en los suelos.

Muestra	%Arcilla	%Arena	%Limo	Textura
SA	21.1	77.1	1.8	Franco-Arcilloso-Arenoso
ST	93.1	5.7	1.2	Arcilloso
SRM	20.3	78.9	0.8	Franco-Arenoso

Por este método se pudo corroborar nuevamente el alto porcentaje de MO en el SA, debido a que durante esta determinación se tuvo que realizar el procedimiento de eliminación de agregación cuatro veces para la oxidación completa de MO, en comparación con el ST y SRM, logrando analizar solo las partículas.

En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos a partir del triángulo de textura (Figura 2) y se observa como el SA presenta un comportamiento y equilibrio total con el tipo de partículas, es decir, es de textura franco cuando contiene menos del 25% de arcilla. En términos generales son los más adecuados para la práctica de la agricultura por las interacciones estables que presenta la arcilla con la MO. Por otro lado, presenta un alto porcentaje de arena con una característica muy peculiar que es su gran porosidad, cuyo efecto inmediato es la percolación, que está relacionado con la filtración de agua de lluvia o riego hasta la capa freática (capa impermeable en que el agua se acumula y no profundiza más). Sin embargo, tampoco conserva los nutrientes pero esto se compensa con el porcentaje de arcilla. Cuando un suelo es totalmente arcilloso como en el caso del ST presenta elevada retención de

agua y nutrientes, no obstante posee una baja porosidad y la consecuencia lógica es que son suelos que carecen de buenas posibilidades de aireación, aunque se les considera con una alta plasticidad y ofrece una gran resistencia a la penetración de raíces.

El SRM con una textura franco arenoso, es el que presenta las mejores condiciones tanto físicas como químicas. Sin embargo el color de este suelo es rojizo o castaño rojizo indicando una elevada concentración de óxidos de hierro, como se observa en la siguiente sección.

6.4 DETERMINACIÓN DE Fe TOTAL EN LAS MUESTRAS DE SUELO POR ABSORCIÓN ATÓMICA

Se realizó la determinación de hierro por las características fisicoquímicas (color, textura, electrodeposición, absorción de agua, etc.) que presentaba el SRM en la no precipitación de los AHs con el método de extracción, no obstante en la separación de las huminas con la fracción soluble (húmica-fúlvica) se observó una electrodeposición en el agitador magnético. Con base en lo anterior se pensó que el SRM presentaría una mayor cantidad de hierro en comparación con el SA y ST.

Las concentraciones de Fe total que contenían las muestras de los suelos siguieron este orden: SA>SRM>ST (Tabla 7).

Tabla 7. Determinación de la cantidad de Fe en el suelo.

Muestra	g/Kg suelo
SA	46.64 ^(6.71)
SRM	34.47 ^(5.66)
ST	16.86 ^(6.86)

(entre paréntesis %DSR; tres análisis SA y seis análisis ST y SRM)

Correlacionando los resultados obtenidos en lo que se refiere a la textura del suelo y al contenido de hierro, en los SA y ST el hierro se encuentra interaccionando con los compuestos arcillosos, logrando la precipitación de los AHs a pH < 2, es decir, se lleva a cabo la protonación de los grupos funcionales característicos (-COOH y OH-) de estas macromoléculas. Sin embargo, el Fe

contenido en el SRM (con ausencia o muy bajo porcentaje de arcilla) presenta la formación de complejos estables con la MO (AH-Fe) a pH < 3 estabilizando las cargas negativas de los AHs evitando la precipitación y su extracción (Kai, et. al., 2015; Dinesh, et. al., 2016; Youlian, et. al., 2015)

El porcentaje de hierro de las tres muestras suelo se encuentra dentro de los límites según lo reportado en la literatura (Acevedo et. al.; 2004), donde se menciona que el contenido de hierro en el suelo varía de 0.5 a 5% y que la media estimada es de 3.8%; esto depende del tipo de suelo y la roca madre.

6.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS AHs (EXTRAÍDOS: AH-A Y AH-T, Y COMERCIAL: AH-CH)

El método de extracción utilizando Na₂P₂O₇•10H₂O e NaOH como agentes extractantes, es un tratamiento mucho más rápido, económico y eficiente comparado con otros métodos (Kononova, 1982), aunque no es recomendable para suelos muy mineralizados (Licona Sánchez, 2007).

De la extracción se obtiene una lámina muy delgada de un sólido negro. Con dicho método el porcentaje de rendimiento de extracción considerable del 7% para el SA y del 4% para el ST.

6.5.1 ANÁLISIS ELEMENTAL

Se realizó el análisis elemental de las muestras de AHs con la finalidad de comparar y discutir las variaciones en cuanto a sus propiedades químicas y composición elemental (valores reportados: C 50-60%, O 30-40%, H 4-6%, N 1-6% y S 0.1-0.5%) (Tipping, 2002). En lo que corresponde a los resultados, éstos suelen expresarse por medio de las relaciones entre átomos.

Tabla 8. Composición elemental de los AHs en estudio.

Muestra	Composición elemental			
	%C	%H	%N	%O*
AH-CH	33.67 _(3.14)	2.69 _(3.59)	0.60 _(0.96)	63.03 _(1.81)
AH-A	47.38 _(0.96)	4.18 _(0.14)	2.98 _(2.38)	45.46 _(1.16)
AH-T	32.31 _(2.77)	2.31 _(4.10)	0.28 _(6.19)	65.10 _(1.49)

*%O calculado como la diferencia del 100%. (entre paréntesis %DSR de tres análisis)

El porcentaje de Nitrógeno (N) en el AH-A se ubica en valores mayores en comparación con el AH-CH (comercial) y el AH-T. Con ello puede demostrarse que el proceso de extracción usado no elimina a los compuestos nitrogenados, por lo que se considera que el nitrógeno en el AH-A forma parte de compuestos cíclicos, más resistentes a la hidrólisis ácida (Kononova, 1982). Asimismo, el alto porcentaje de N en este ácido (AH-A) puede deberse a que proviene de un suelo con una gran cantidad de materia orgánica debido a la presencia y a la constante degradación de vegetales.

Tabla 9. Relaciones: H/C y O/C con base a sus átomos.

Muestra	Relación		
	C:H:N:O(átomos)	H/C	O/C
AH-CH	66:63:1:92	0.95	1.39
AH-A	19:20:1:13	1.05	0.68
AH-T	135:116:1:204	0.86	1.51

Con respecto a la relación H/C para los tres AHs, se observa que son de naturaleza aromática en diferentes grados, decreciendo en el siguiente orden: AH-T > AH-CH > AH-A, ya que de acuerdo a la literatura valores ≤ 1 predomina el carácter aromático (Kononova, 1982). Por otro lado, debido a que la relación O/C es superior a 0.5, indica que son AHs con un alto contenido de grupos carboxílicos y/o carbohidratos, siendo el AH-T el que presenta un mayor contenido de estos grupos. Es importante mencionar que las relaciones: H/C y O/C se ven afectadas por diversos factores (clima, topografía, biomasa, grado de humificación, entre otros) y por el método de extracción (Stevenson, 1994).

6.5.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CENIZAS

El alto porcentaje en cenizas en el AH-T (del cual no es posible liberarse ni volviendo a precipitar) comparado con los porcentajes del AH-A Y AH-CH señala la existencia de fuertes uniones (posiblemente complejas) con arcillas o metales que sustituyen al hidrógeno en la estructura del AH. El porcentaje de

cenizas de los tres AHs decrece de la siguiente forma: AH-T > AH-CH > AH-A (Tabla 10).

6.5.3 ESPECTROSCOPIA UV/VIS

Se calculó el coeficiente de absorptividad molar a 280 nm con base en la concentración de carbono (Ecuación 9), ya que a esta longitud de onda ocurren las transiciones electrónicas $\pi - \pi^*$ de compuestos con dobles ligaduras. Posteriormente, se calculó el porcentaje de aromaticidad y el peso molecular promedio (Ecuación 10 y 11) utilizando el coeficiente de absorptividad molar de cada uno de los AHs de los suelos en estudio. Los resultados obtenidos de las propiedades espectroscópicas se exponen en la Tabla 10.

A pesar que los espectros de los AHs caracterizados presentan la misma tendencia, existen pequeñas diferencias (Figura 8) que arrojan diferentes valores en su respectivo cociente E_4/E_6 (Tabla 10). Sin embargo, y de acuerdo a lo reportado en la literatura (Stevenson, 1994), los AHs que se analizaron presentan un valor del cociente $E_4/E_6 < 5$, lo cual indica que son ácidos maduros o humificados (mayor carácter aromático y peso molecular), decreciendo en el siguiente orden: AH-A > AH-CH > AH-T. Esto último coincide con el porcentaje de aromaticidad y el peso molecular promedio obtenidos mediante el coeficiente de absorptividad molar.

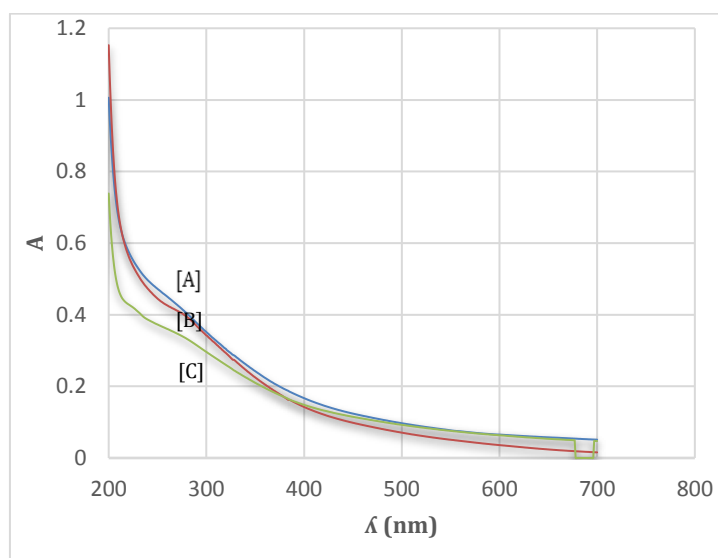


Figura 8. Espectros de absorción UV/Vis: [A] AH-CH, [B] AH-A y [C] AH-T, 10 mg/L, pH = 11.09, longitud de celda: 1 cm.

6.5.4 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TOTAL Y CANTIDAD DE GRUPOS CARBOXÍLICOS Y FENÓLICOS

Es común encontrar en los AHs grupos funcionales carboxílicos (-COOH) e hidroxilos fenólicos (-OH), cuyo hidrógeno es susceptible a las reacciones de sustitución. Debido a la presencia de estos grupos los AHs tienen propiedades ácidas y la capacidad de intercambiar iones. Los resultados del análisis se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 10. Propiedades de los AHs en estudio.

<i>Parámetros</i>	ÁCIDOS HÚMICOS		
	AH-CH	AH-A	AH-T
%Cenizas	11.70 (1.00)	6.09 (1.34)	50.77 (1.34)
$\epsilon_{(280)}/(L \text{ (mol de CO)}^{-1} \text{ cm}^{-1})$	1 409.00	1 158.01	1 237.51
% Aromaticidad	77.17	64.64	68.62
P.M.	6 110.32	5 110.44	5 427.67
E ₄ /E ₆	2.07	4.26	2.06
Acidez total (meq g ⁻¹)	8.00 (4.06)	10.55 (3.28)	5.58 (2.96)
COOH (meq g ⁻¹)	3.33 (1.36)	4.58 (3.22)	1.88 (13.24)
OH (meq g ⁻¹)	4.67 (2.71)	5.97 (6.24)	3.70 (8.10)

* % DER entre paréntesis para un total de seis análisis AH-T y AH-CH y tres análisis AH-T. Resultados que no reportan %DER ≤1

Del análisis de las Tablas 8 y 10, se observa que el AH-A y AH-CH presentan un mayor porcentaje de hidrógeno y mayor acidez, es decir tienen mayor cantidad de grupos funcionales carboxílicos e hidróxidos fenólicos (-COOH y -OH). Por otro lado, de acuerdo a la relación O/C, el AH-T es el que posee mayor cantidad de grupos carboxílicos y/o carbohidratos, pero una menor acidez, lo cual indica que una parte del oxígeno esté formando complejos con metales y/o arcillas, hecho que se refleja en su alto contenido de cenizas (Tabla 10).

6.5.5 ESPECTROSCOPIA DE IRTF

Los espectros de IRTF de los AHs (AH-CH, AH-A y AH-T) (Figura 9) revelan la presencia de bandas de absorción muy similares, independientemente de su fuente de origen natural, aunque con pequeñas diferencias de intensidad y desplazamientos. Esto permite proponer la presencia de los mismos grupos

funcionales principales y más abundantes del tipo -OH, -COOH, -C=O, de alcoholes, fenoles, ésteres, cetona o amidas, aunque en diferente proporción.

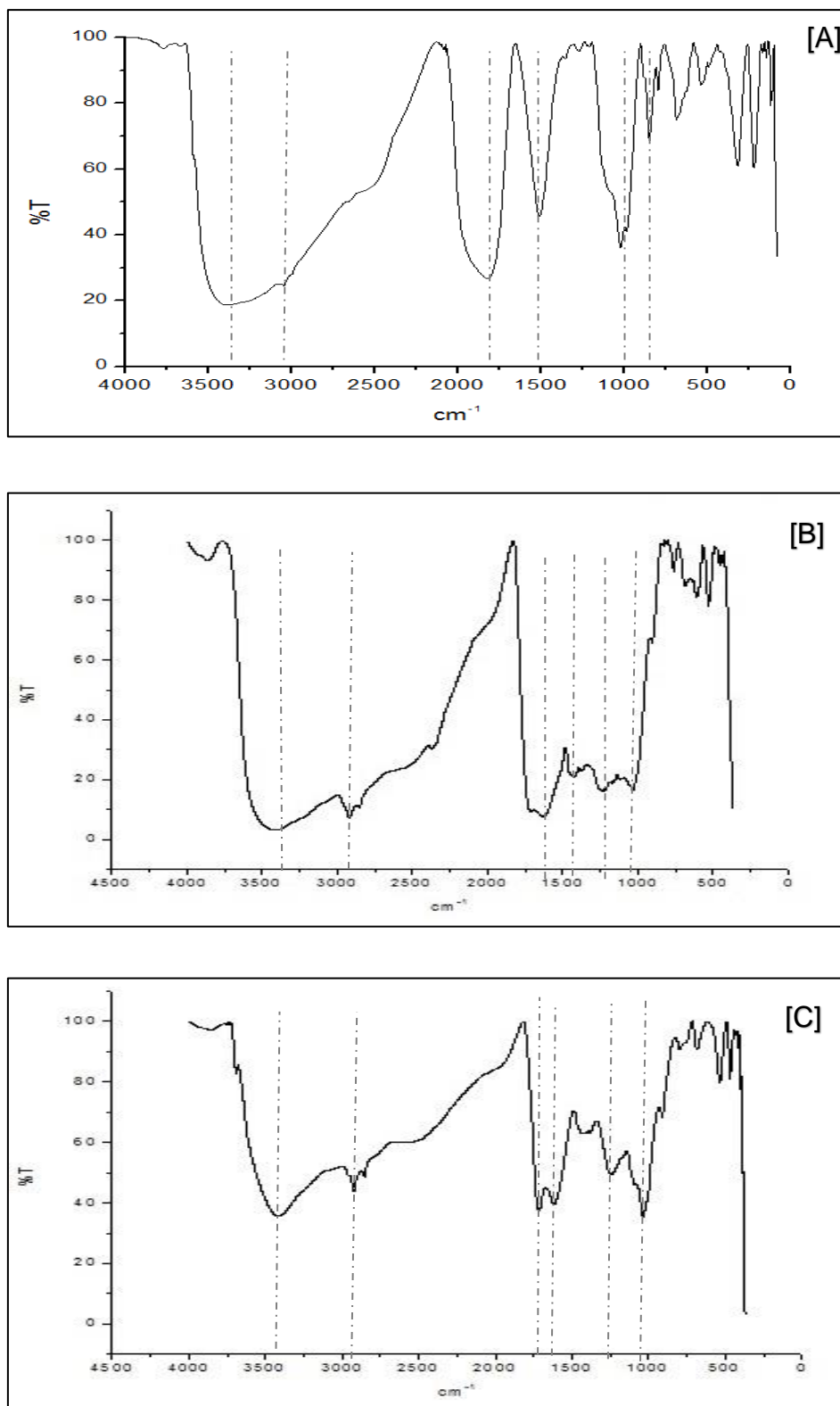


Figura 9. Espectro de IRTF: [A] AH-CH, [B] AH-A y [C] AH-T analizados en pastilla: con 2.0 mg muestra en 200 mg de KBr.

En los espectros de IRTF de la Figura 9 se observa la presencia de bandas de absorción que caracterizan las vibraciones de alargamiento y de flexión dentro y fuera del plano, así como las huellas dactilares (912 a 450 cm⁻¹) en las diferentes agrupaciones atómicas (Tabla 11).

Tabla 11. Asignación de las bandas de absorción de los espectros de infrarrojo de la Figura 10.

ν cm ⁻¹	Asignación
3650-3100	ν O-H, N-H
3100-2840	ν C-H
1710-1585	ν C=O, C=C
1440-1330	\int O-H, =C-H; ν C-N
1320-1100	ν C-O, \int C=O
1200-1020	ν C-C
912-450	Huellas dactilares

Una vez caracterizadas las señales principales en los espectros, es importante señalar las diferencias más representativas de los AHs: el AH-CH (Figura 10-A) por su mayor peso molecular y aunado a ello la mayor cantidad de grupos funcionales como se reporta en la Tabla 10, presenta señales muy anchas y no se logra observar la señal de las cadenas alifáticas (2943-2850 cm⁻¹ C-H alcanos y CH₃).

Sin embargo se corrobora con la señal característica de los polisacáridos que también corresponde con una banda ancha (1093-1084 cm⁻¹ de C-O); por otro lado, el AH-A (Figura 9-B) presenta mayor cantidad de cadenas alifáticas (2943-2850 cm⁻¹ C-H alcanos y CH₃), de la misma forma el AH-T (Figura 9-C), aunque se presenta una ligera disminución en la señal, lo que se relaciona con un mayor valor en su peso molecular. En el espectro del AH-A (Figura 9-B), se observa un aumento de la banda característica de los grupos funcionales –COOH y –OH (3650-3100 cm⁻¹) y comprobando el aumento de grupos –COOH aparece un ensanchamiento de la banda característica del grupo carbonilo –C=O (1710-1730 cm⁻¹), nuevamente confirmando la acidez de este ácido (Shirshova, Ghabbour, Davies, 2006). Por otro lado, se piensa que los oxígenos del AH-T se encuentran enlazados a metales o compuestos arcillosos comprobando nuevamente el alto porcentaje de cenizas y la baja acidez.

6.6 ESTUDIO DE LAS CINÉTICAS DE INTERACCIÓN DE AHS EN PRESENCIA DE IONES MULTIVALENTES

En la Figura 10 se presenta el Potencial Zeta (ζ) del AH-A sin metal y en presencia de los metales (Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺) con la finalidad de evaluar el efecto de cada catión a diferentes concentraciones (3, 5, 10 y 15 mM) y valores de pH (3, 5, 7, 8 y 11).

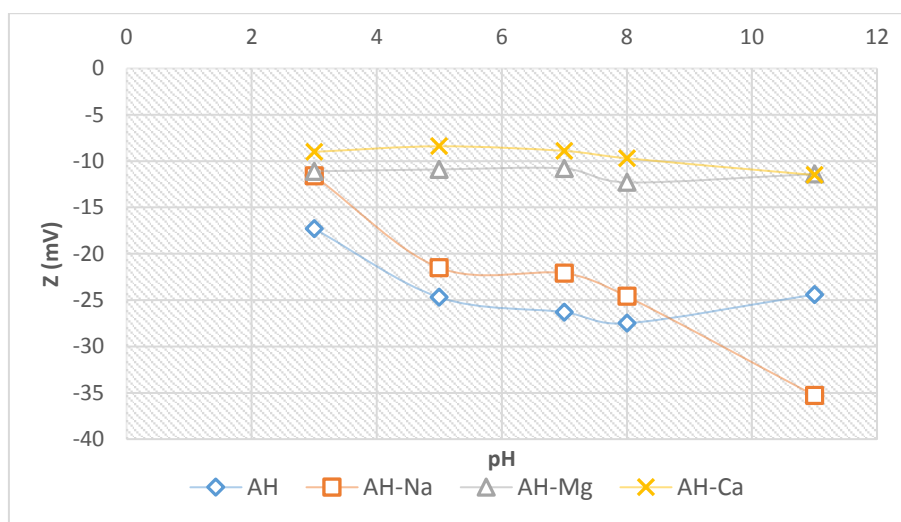


Figura 10. ζ del AH-A sin metal y en presencia de metal (Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺) a 15 mM

En la Figura 10 se puede observar que el valor del ζ del AH-A disminuye significativamente a pH's mayores de 8, lo cual es reflejo de la desprotonación de los grupos fenólicos cuyo pKa está alrededor de pH 9, mientras que a pH's ácidos el valor del ζ es función solamente de la ionización de grupos carboxílicos.

El efecto positivo sobre el ζ (cuando el potencial se vuelve menos negativo) es debido a la presencia de los diferentes metales, se explica por la reducción de la carga del AH-A que se unen a los grupos carboxílicos y/o fenólicos negativamente cargados. La magnitud de esta diferencia, puede relacionarse también con la afinidad entre la macromolécula y los iones metálicos, siendo mayor hacia el Ca²⁺ con la misma relación estequiométrica y carga que el Mg²⁺, quienes presentan la mayor interacción con los grupos carboxílicos e hidróxidos (-COO⁻ y -O⁻) tal y como lo marca la literatura (Kloster, et.al., 2013). Así, es posible ver que los cambios en el valor del ζ no sólo son el efecto del

cambio en la fuerza iónica de la disolución y por tanto, de la compresión de la doble capa que rodea a la macromolécula, sino una medida de la atracción entre AHs y diferentes compuestos iónicos.

Debido a la mínima influencia que tiene la sal de Na⁺ en el ζ del AH, y con la finalidad de aumentar la conductividad eléctrica de la disolución, a los posteriores análisis se realizaron añadiendo una concentración 15 mM de NaCl como electrolito soporte. Así, se evaluó bajo estas condiciones el efecto del incremento de la concentración de los metales a 1, 2 y 3 mM, a valores de pH 5 y 7 (16 h de reacción). Los resultados se pueden observar en las Figuras 11 y 12.

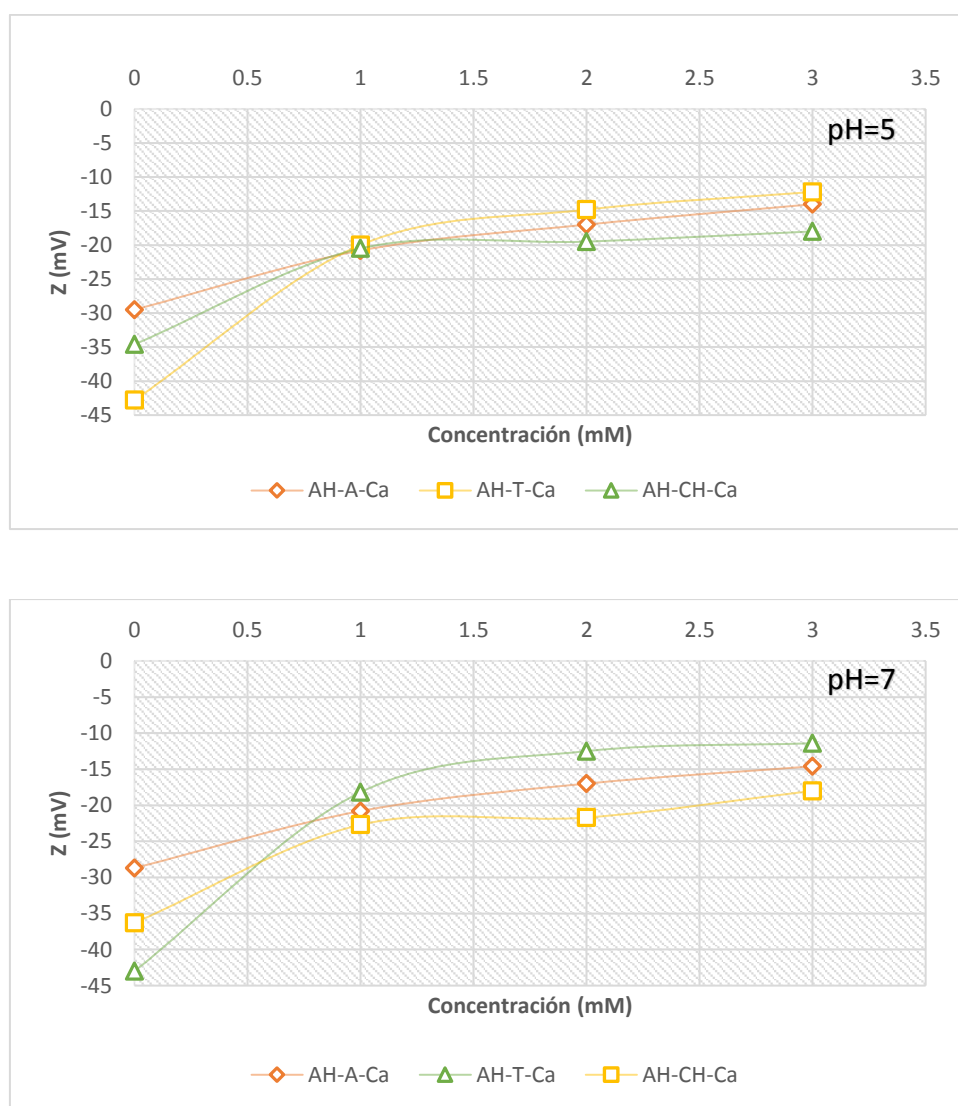


Figura 11. Efecto de la concentración de Ca²⁺ en el ζ del AH-A, AH-CH Y AH-T a pH = 5 y 7, NaCl 15mM.

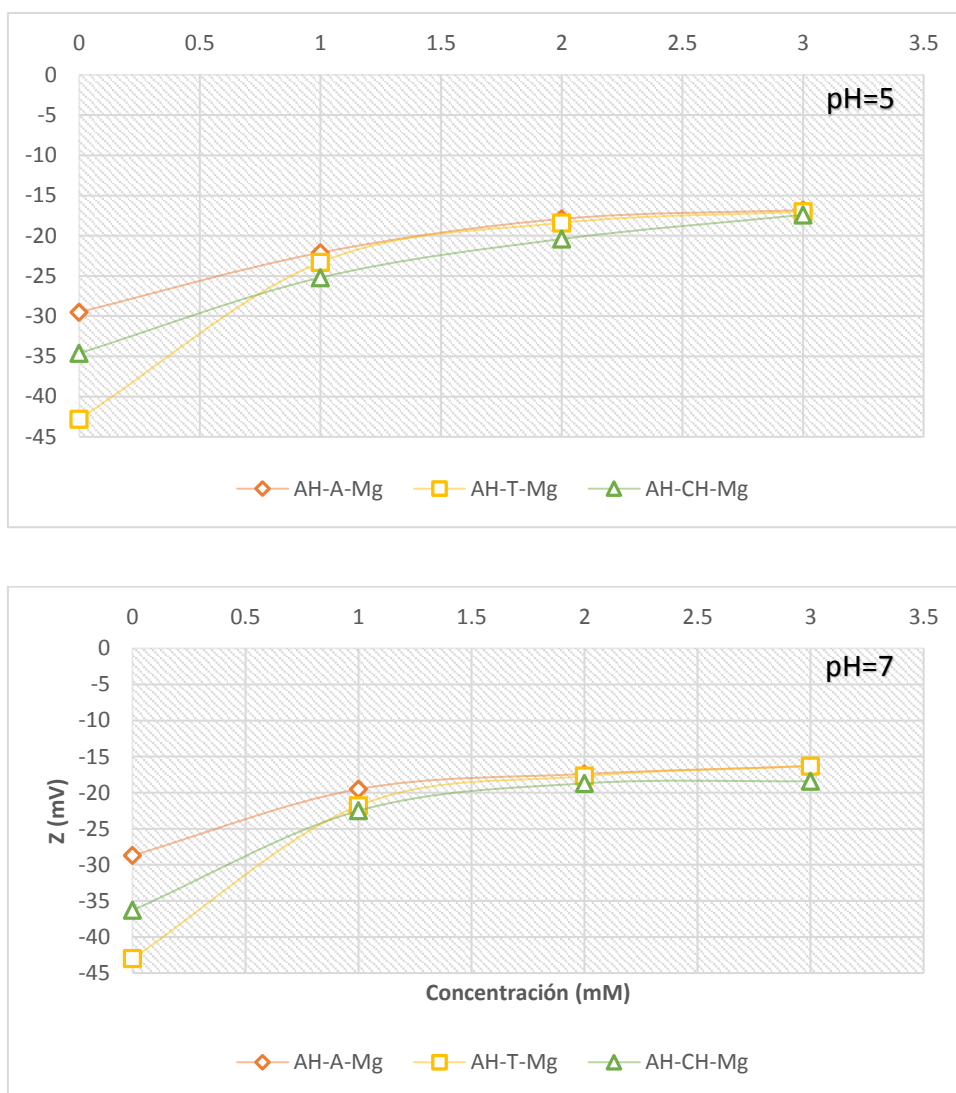


Figura 12. Efecto de la concentración de Mg²⁺ en el ζ del AH-A, AH-CH y AH-T a pH = 5 y 7, NaCl 15 mM.

El estudio del efecto de variación de la concentración (1, 2 y 3 mM) de Ca²⁺ y Mg²⁺ a pH 5 y 7 mostró que la interacción es independiente del pH. Así, en la Tabla 12 se presentan los valores promedio obtenidos del ζ del AH-CH, AH-A y AH-T en ausencia del metal y en la Tabla 13 se presentan los valores promedio de los mismos AHs en presencia del metal. De las tablas se puede observar como los resultados se vuelven menos negativos al ir aumentando su concentración.

Tabla 12. Determinación del ζ de los AHs (AH-A y AH-T).

Muestra	Potencial Zeta (ζ)	
	pH = 5	pH = 7
AH-CH	-34.6 (4.53)	-36.3 (1.53)
AH-A	-29.5 (5.42)	-28.7 (3.93)
AH-T	-42.8 (3.50)	-43.6 (4.69)

(entre paréntesis %DSR de tres análisis)

Tabla 13. Determinación del ζ de los AHs con Ca²⁺ y Mg²⁺ a pH = 5 y 7.

Muestra	Potencial Zeta (ζ)					
	pH = 5			pH = 7		
	1mM	2mM	3mM	1mM	2mM	3mM
AH-CH-Ca	-20.5 (4.28)	-19.5 (2.52)	-18.0 (3.25)	-22.7 (1.76)	-21.7 (1.58)	-18.0 (0.32)
AH-CH-Mg	-25.2 (1.21)	-20.4 (2.73)	-17.4 (2.33)	-22.5 (1.36)	-18.7 (3.61)	-18.4 (2.89)
AH-A-Ca	-20.8 (6.25)	-17.0 (3.53)	-14.0 (4.29)	-20.8 (1.86)	-17.0 (4.12)	-14.6 (2.74)
AH-A-Mg	-22.1 (5.43)	-17.9 (2.85)	-16.8 (5.36)	-19.5 (3.80)	-17.4 (2.87)	-16.3 (4.91)
AH-T-Ca	-20.0 (6.00)	-14.8 (2.70)	-12.2 (4.04)	-18.2 (7.75)	-12.5 (6.43)	-11.4 (5.10)
AH-T-Mg	-23.3 (3.10)	-18.4 (4.89)	-17.0 (3.28)	-21.8 (1.38)	-17.7 (3.75)	-16.3 (2.81)

(entre paréntesis %DSR de ocho y tres análisis)

Se evaluaron las cinéticas de agregación en las soluciones de AH-CH, AH-A y AH-T, en presencia de Ca²⁺ y Mg²⁺ a 1 y 3.5 mM y pH 5 y 7. Las muestras se analizaron cada 10 min durante un período de 1 h. En las Figuras 13, 14 y 15 se observa como el ζ es constante cuando el AH interacciona con Ca²⁺ o Mg²⁺ después de los 10 min, lo cual muestra un proceso no limitado por la cinética ni por la termodinámica a esos valores de pH (Tabla 14 y Tabla 15) (Kloster, et. al., 2013; Licona Sánchez, 2007).

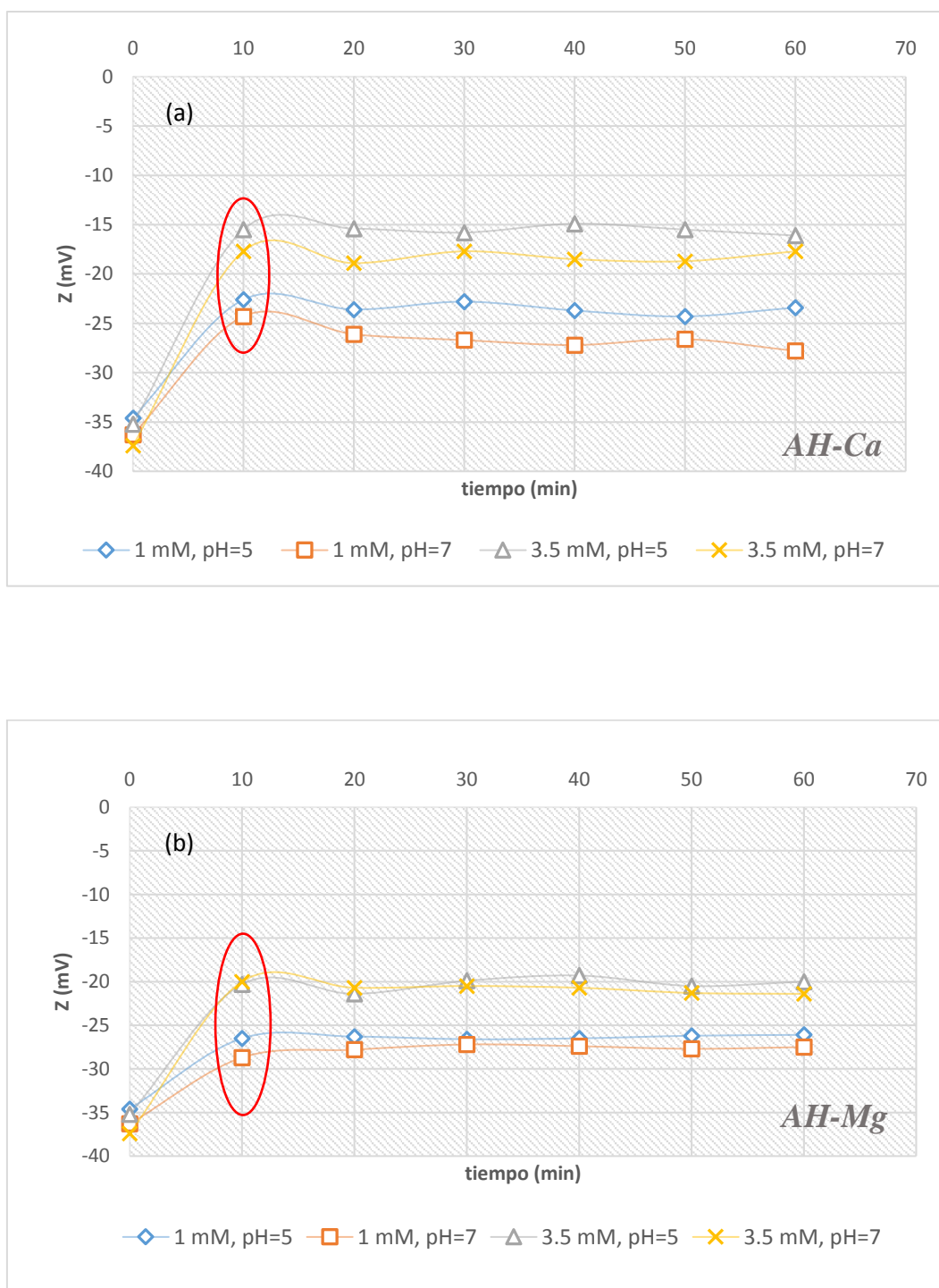


Figura 13. Efecto del tiempo en los valores del ζ del AH-CH con (a) Ca²⁺ y (b) Mg²⁺ a 1 y 3.5 mM, NaCl 15 mM.

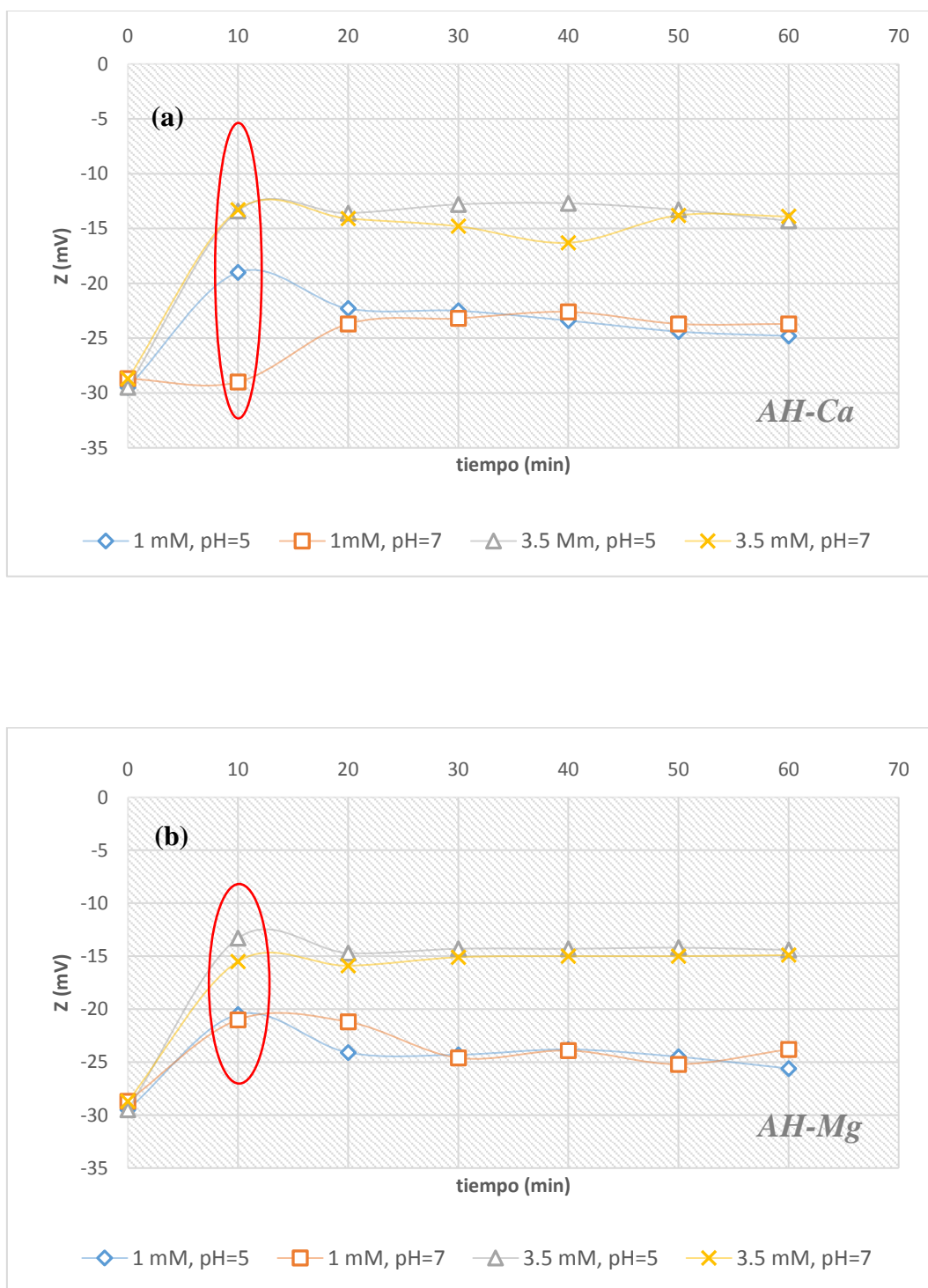


Figura 14. Efecto del tiempo en los valores del ζ del AH-A con (a) Ca²⁺ y (b) Mg²⁺ a 1 y 3.5 Mm, NaCl 15 mM.

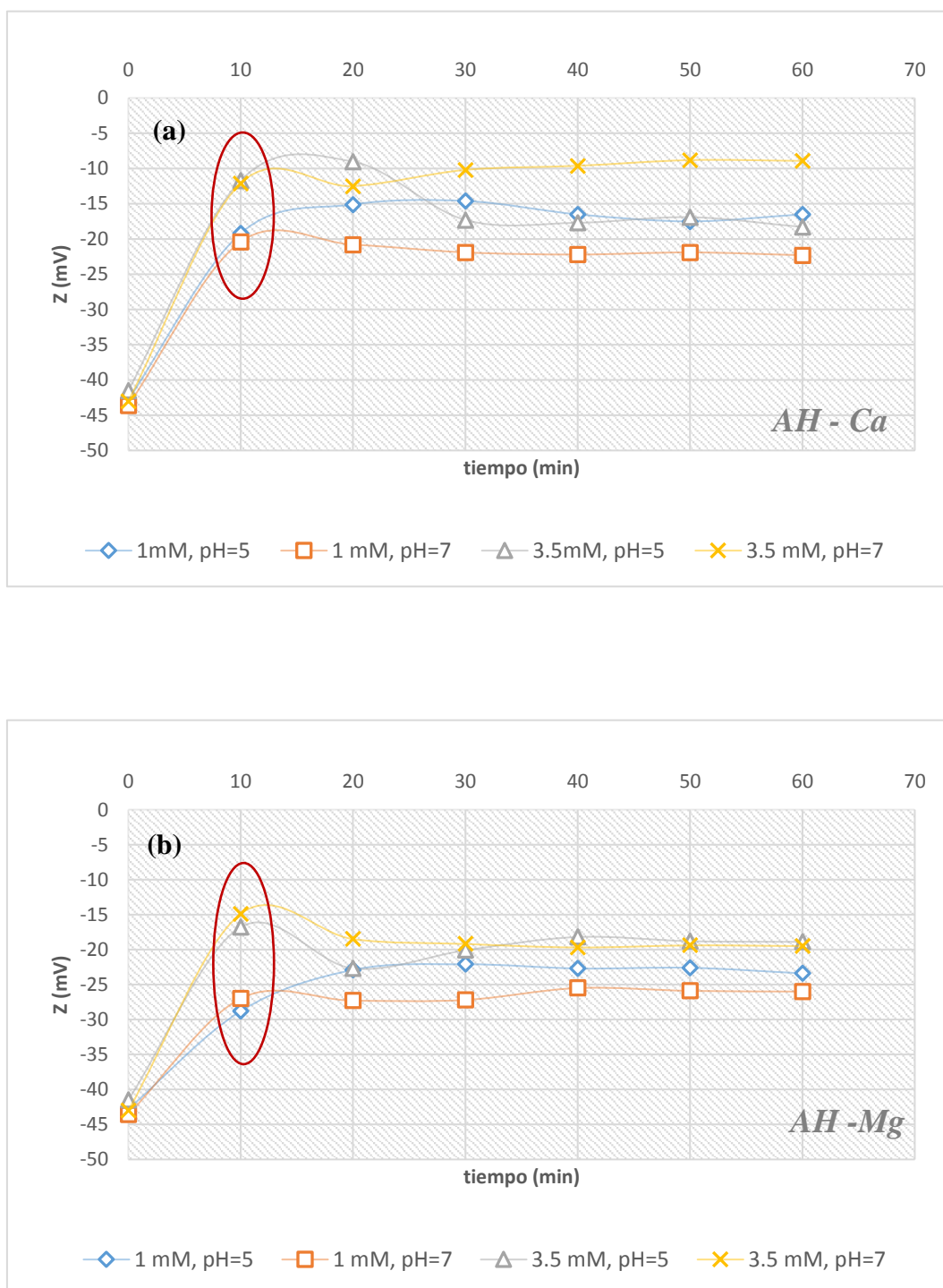


Figura 15. Efecto del tiempo en los valores del ζ del AH-T con (a) Ca²⁺ y (b) Mg²⁺ a 1 y 3.5 mM, NaCl 15 mM.

La interacción del metal Ca²⁺ o Mg²⁺ con el AH se llevó a cabo en los primeros 10 min, después del transcurso de ese tiempo como se puede observar en las Figuras 13, 14 y 15 se presenta un equilibrio o estabilidad de los coloides con

el catión bivalente formándose los agregados o aglomerados (Figura 16). También se puede apreciar que al aumentar la concentración disminuye la carga negativa del ζ permitiendo la formación de los complejos *AH-Metal*.

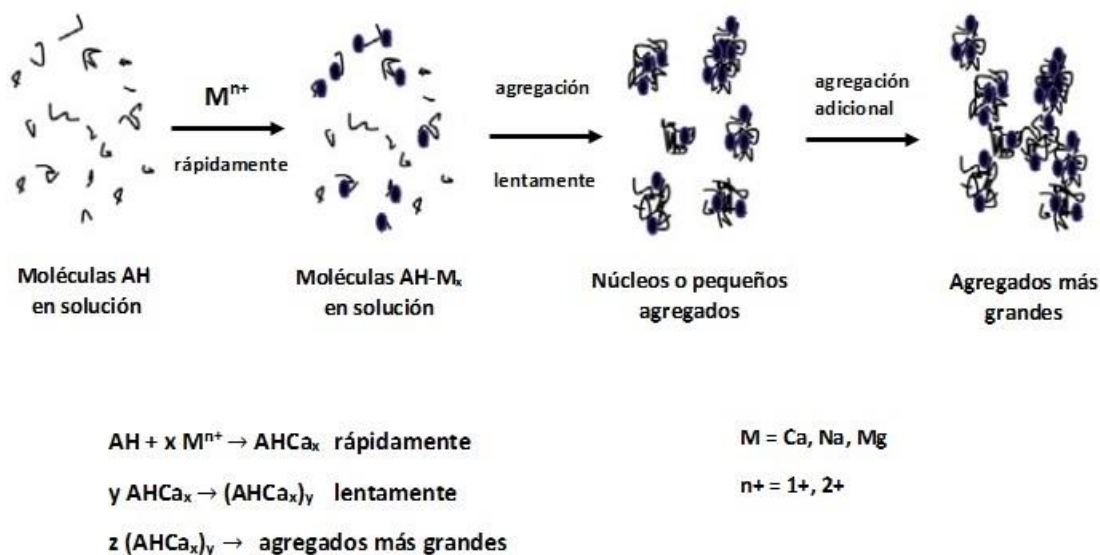


Figura 16. Formación de agregados AH-M (Kloster et. al; 2013)

Tabla 14. Determinación del ζ de los AHs con Ca²⁺ y Mg²⁺ a pH = 5 y 7, t = 10 min

Muestras	Potencial Zeta (ζ)			
	pH = 5		pH = 7	
	1mM	3.5mM	1mM	3.5mM
AH-C-Ca	-22.60 (2.81)	-15.50 (2.26)	-24.30 (4.75)	-17.70 (4.93)
AH-C-Mg	-26.50 (2.47)	-20.30 (3.35)	-28.70 (4.16)	-20.00 (2.02)
AH-A-Ca	-19.00 (6.05)	-13.40 (2.27)	-29.00 (4.23)	-13.30 (1.53)
AH-A-Mg	-20.50 (4.06)	-13.30 (3.35)	-21.00 (2.75)	-15.50 (6.95)
AH-T-Ca	-19.20 (5.02)	-10.00 (4.58)	-20.40 (5.94)	-11.70 (1.42)
AH-T-Mg	-28.80 (5.58)	-16.80 (1.57)	-27.00 (0.43)	-14.90 (2.15)

(en paréntesis %DSR de ocho y tres análisis)

Tabla 15. Determinación del ζ en las cinéticas de los AHs con Ca²⁺ y Mg²⁺ a pH = 5 y 7.

Muestra	Potencial Zeta (ζ)							
	pH = 5				pH = 7			
	1mM		3.5mM		1mM		3.5mM	
	x̄	L.C.	x̄	L.C.	x̄	L.C.	x̄	L.C.
AH-C-Ca	-23.56	-22.89 -24.23	-15.54	-14.98 -16.10	-26.88	-26.08 -27.68	-18.30	-17.60 -19.00
AH-C-Mg	-26.34	-26.08 -26.60	-20.22	-19.24 -21.20	-27.52	-27.22 -27.82	-20.92	-20.45 -21.42
AH-A-Ca	-23.48	-22.10 -24.86	-13.34	-12.53 -14.15	-23.38	-22.77 -23.99	-14.58	-13.29 -15.87
AH-A-Mg	-24.46	-23.60 -25.32	-14.38	-14.14 -14.62	-23.74	-21.84 -25.64	-15.18	-14.67 -15.69
AH-T-Ca	-16.04	-14.58 -17.50	-15.85	-11.07 -20.63	-21.82	-21.08 -22.56	-10.01	-8.14 -11.88
AH-T-Mg	-22.74	-22.15 -23.33	-19.74	-17.51 -21.97	-26.38	-25.36 -27.40	-19.26	-18.69 -19.83

x̄ es el valor promedio de cinco mediciones, después de los 10 min. L.C. son los límites de confianza

En la Tabla 14 se presentan los valores promedio del ζ a los 10 min de interacción de los AHs con el metal y en la Tabla 15 se presentan los valores promedio del ζ de los 20 a 60 min con sus respectivos límites de confianza (L.C.). Con estos resultados puede concluirse más detalladamente que en los primeros 10 min se lleva a cabo la formación del complejo de la macromolécula del húmico con Ca²⁺ o Mg²⁺, llevándose a cabo la estabilización del coloide. No obstante esto se corrobora con el seguimiento de las cinéticas, obteniendo valores del ζ muy parecidos y constantes dependiendo de la concentración del metal a 1 o 3.5 mM (Tabla 15).

7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se realizó un estudio completo de caracterización de tres muestras de suelo (SA, SRM y ST) del estado de Hidalgo, obteniendo resultados acertados y reproducibles. Sobre todo se concluye que el tipo de suelo adecuado para estos estudios fue el SA, el cual es un suelo franco-arcillosos-arenoso. Con este se utiliza el método de Kononova modificado, que es un proceso económico, rápido y eficiente para extraer AHs con un porcentaje de rendimiento de extracción considerable del 7% y del 4% para el ST, encontrando relación con los valores del %MO.

En los tres AHs la aromaticidad, peso molecular y el grado de humificación decrece en el siguiente orden: AH-CH > AH-T > AH-A, sin embargo en lo que respecta al grado de acidez decrece en el siguiente orden: AH-A > AH-CH > AH-T, tomado en cuenta todos los resultados obtenidos por AE, UV/Vis, titulaciones ácido/base e IRTF.

Con el método de extracción utilizando Na₂P₂O₇·10H₂O e NaOH como agentes extractantes, se obtuvieron AHs (AH-A y AH-T) muy estables y poliácidos, como consecuencia tienen una gran capacidad de intercambio catiónico. Las interacciones AH-Ca y AH-Mg se favorecen al aumentar la concentración del metal, llevándose a cabo el proceso de agregación en los primeros 10 min e independiente del pH entre valores de 3 a 7, provocando la disminución de la carga neta negativa de la molécula, tal y como se presentaron los valores promedio en la Tabla 15 y permitiendo así que tales complejos se aproximen e interaccionen a través de enlaces de puente de hidrógeno formándose agregados o aglomerados.

7.1 PERSPECTIVAS

Con los resultados obtenidos en esta investigación se pretende hacer un análisis estadístico completo en el cual se puedan correlacionar los datos obtenidos., así como realizar pruebas de comparación de medias y ANOVA. Calcular conductividades eléctricas de las sales utilizadas en las interacciones AH-M.

ANEXO I

COMPORTAMIENTO DE LOS COLOIDES

Los coloides tienen un tamaño intermedio entre las partículas en solución verdadera y las partículas en suspensión. El tamaño y la naturaleza del material son los que determinan si la partícula es coloidal (Figura 17) (Sandoval et. al.)

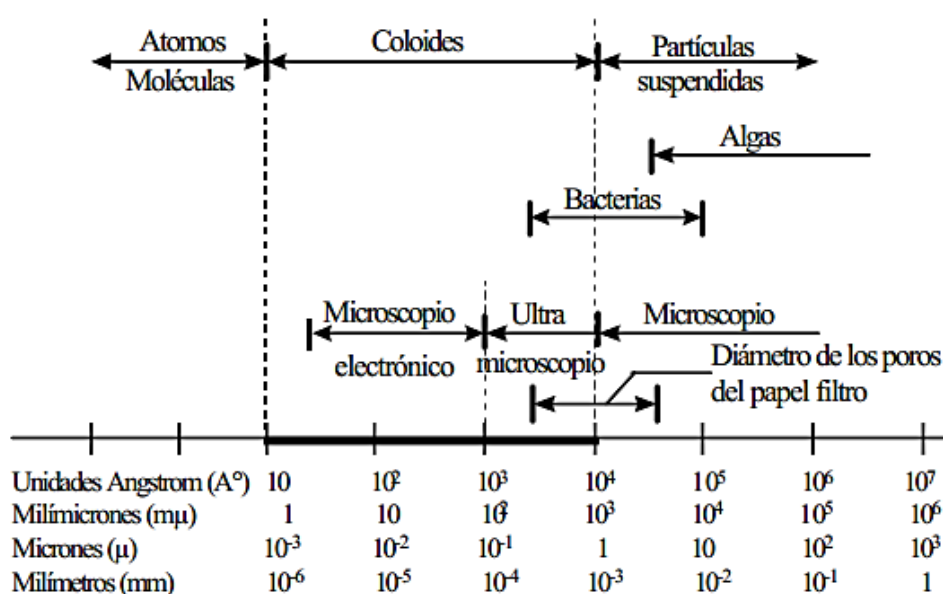


Figura 17. Distribución de tamaños de las partículas en el agua (Sandoval et. al.).

Las propiedades físicas y cualidades de las suspensiones están fuertemente afectadas por las propiedades de los coloides. Las repulsiones mutuas entre partículas adyacentes impiden la unión de grandes y rápidas sedimentaciones de aglomerados.

Cada coloide contiene una carga eléctrica que suele ser de naturaleza negativa, aunque también puede ser positiva. Estas cargas producen fuerzas de repulsión electrostática entre los coloides vecinos. Si la carga es suficientemente elevada los coloides permanecen discretos, dispersos y en suspensión. Reduciendo o eliminando estas cargas se obtiene el efecto opuesto y los coloides se aglomeran y sedimentan fuera de la suspensión. (Zeta Meter, 1998)

POTENCIAL Z

Es una medida de la estabilidad de una partícula e indica el potencial que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula para desestabilizarla. Por lo tanto, el potencial zeta es la potencia electrostática que existe entre la separación de las capas que rodean a la partícula. (Sandoval et. al.)

MODELO CAPA DIFUSA

Se usa el modelo de la doble capa para visualizar la atmósfera iónica en la proximidad del coloide cargado y para explicar cómo actúan las fuerzas eléctricas de repulsión (Figura 18). Es posible entender este modelo como una secuencia de etapas que ocurren alrededor de un coloide negativo, si los iones que neutralizan sus cargas son repentinamente separados.

La atracción del coloide negativo hace que algunos iones positivos formen una rígida capa adyacente alrededor de la superficie del coloide; esta capa de contra-iones es conocida como la capa de Stern. (Zeta Meter, 1998)

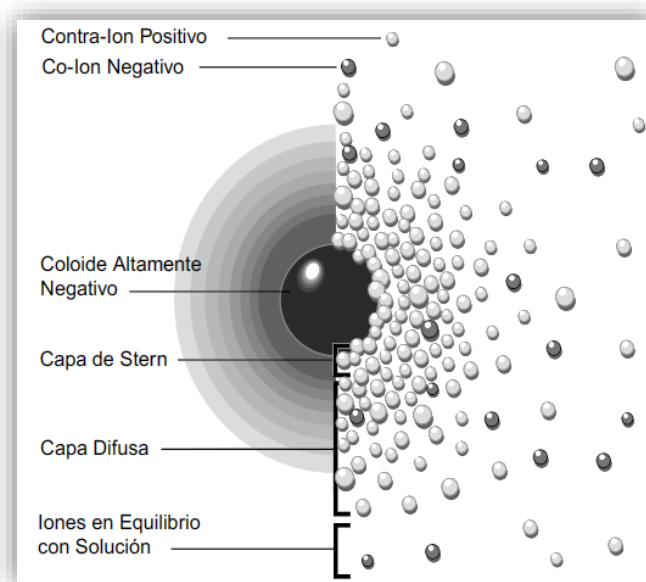


Figura 18. Modelo de la capa difusa

Otros iones positivos adicionales son todavía atraídos por el coloide negativo, pero estos son ahora rechazados por la capa de Stern, así como por otros

iones positivos que intentan acercarse al coloide. Este equilibrio dinámico resulta en la formación de una capa difusa de contra-iones. Los contra-iones tienen una alta concentración cerca de la superficie, la cual disminuye gradualmente con la distancia, hasta que se logra un equilibrio con la concentración de los contra-iones en el seno de la disolución.

En forma similar, aunque opuesta, en la capa difusa hay un déficit de iones negativos, llamados co-iones pues tienen la misma carga que el coloide. Su concentración se incrementa gradualmente al alejarse del coloide, mientras que las fuerzas repulsivas del coloide son compensadas por los iones positivos, hasta alcanzar nuevamente el equilibrio. La capa difusa puede ser visualizada como una atmósfera cargada rodeando al coloide. A cualquier distancia de la superficie, la densidad de carga es igual a la diferencia de concentración entre iones positivos y negativos. La densidad de carga es mucho mayor cerca del coloide y gradualmente disminuye a cero cuando las concentraciones de iones positivos y negativos se asemejan.

Los contra-iones de la capa de Stern y de la capa difusa son los que juntos llamaremos la doble capa. El espesor de esta doble capa depende del tipo y concentración de los iones de la solución.

Un punto de particular interés es el potencial donde se unen la capa difusa y la de Stern. Este potencial es conocido como el potencial zeta, el cual es importante porque puede ser medido de una manera muy simple, mientras que la carga de la superficie y su potencial no pueden medirse. El potencial zeta puede ser una manera efectiva de controlar el comportamiento del coloide puesto que indica cambios en el potencial de la superficie y en las fuerzas de repulsión entre los coloides. (Zeta Meter, 1998)

EL BALANCE DE REPULSIÓN Y ATRACCIÓN

La teoría DLVO (llamada así por Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek) es la clásica explicación de los coloides en suspensión. Esta se basa en el equilibrio entre las fuerzas opuestas de repulsión electrostática y atracción tipo van der Waals y explica por qué algunos coloides se aglomeran mientras que otros no lo hacen.

La repulsión electrostática llega a ser importante cuando los coloides se aproximan y la doble capa comienza a interferir. Se requiere energía para superar esta repulsión y forzar la unión entre las partículas. Esta energía aumenta fuertemente cuando las partículas se acercan.

La teoría DLVO explica la tendencia de los coloides a aglomerarse o permanecer separados al combinar la atracción de van der Waals y la curva de repulsión electrostática: la curva combinada es llamada *la energía neta de interacción*. A cada distancia el pequeño valor se resta del mayor valor para dar la energía neta. El valor neto se representa entonces arriba si es repulsivo o abajo si es atractivo, y así se forma la curva. La curva de interacción neta cambia siempre de atracción a repulsión y nuevamente a atracción. Si existe una zona repulsiva, entonces el punto de máxima energía de repulsión se llama la barrera de energía. La altura de esta barrera indica cuán estable es el sistema. Para aglomerar dos partículas que van a chocar estas deben tener suficiente energía cinética debido a su velocidad y masa, como para pasar sobre dicha barrera. Si la barrera desaparece, entonces la interacción neta es totalmente atractiva y consecuentemente las partículas se aglomeran. Esta región interna es referida como la trampa de energía, pues los coloides pueden considerarse como sistemas unidos por fuerzas de van der Waals. (Zeta Meter, 1998).

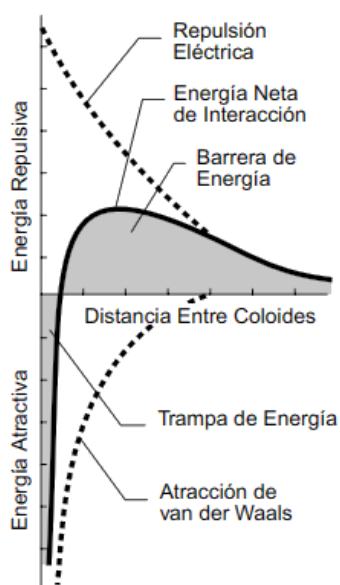
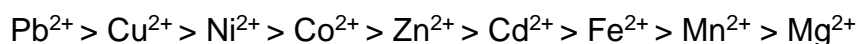


Figura 19. Curva de energía neta de interacción.

Por la naturaleza coloidal de los AHs presentan cargas eléctricas negativas las cuales hacen que el potencial z sea muy negativo, al momento de entrar en contacto con cationes multivalentes (Ca²⁺ y Mg²⁺) forman en complejo AH-M y dichas cargas se van neutralizando por lo tanto el potencial se vuelve más positivo (menos negativo) lo cual quiere decir que el coloide se va estabilizando. La capacidad de los AHs para formar un complejo con un metal puede ser atribuido a su alto contenido de oxígeno que contienen los grupos funcionales, incluyendo -COOH, fenólico, alcohol-enólico, -OH y C=O.

La estabilidad del complejo AH-M depende del número de átomos que forman un enlace con el ion metálico, el número de anillos que se forman, la naturaleza, la concentración del ion metálico y el pH.

El orden de estabilidad de los complejos formados entre los metales y AH se ha determinado a través de la valoración potenciométrica y sigue la serie Irwing Williams:



Por otro lado, a un valor de pH 5 no muestran grandes diferencias en la resistencia de las uniones entre las AH y metales tales como Ca, Mg, Mn, Co, Ni y Zn, mientras que Pb, Cu y Fe son más fuertemente unidos; este comportamiento indica que a diferentes valores de pH, se forman complejos AH-M de diferente estabilidad (López Salazar, 2014).

8. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo Sandoval, O., Ortiz Hernández, E., Cruz Sánchez, M., & Cruz Chávez, E. (2004). EL PAPEL DE ÓXIDOS DE HIERRO EN SUELOS. *Terra Latinoamericana*, 22(4), 486.
- Aguilera Herrero, M. (1989). TRATADADO DE EDAFOLOGÍA DE MÉXICO (Primera ed., Vol. I). México, D.F.: Facultad de Ciencias.
- Almendros, G. (2008). REVISIÓN ANALÍTICA DE SUSTANCIAS HÚMICAS EN SUELOS Y COMPOST. *soilACE*, 239-255.
- Bohn, H. L., McNeal, B. L., & O'connor, G. A. (1993). QUÍMICA DEL SUELO (Primera ed.). (G. Noriega, Ed.) México: Limusa S.A. de C.V.
- Boul, S., Hole, F., McCracken, R., & Southard, R. (1997). SOIL GENESIS AND CLASIFICACION (Cuarta ed.). Iowa USA: Iowa State University Press.
- Casanova Olivo, E. F. (2005). INTRODUCCIÓN A LA CIENCIA DEL SUELO (Segunda ed.). Caracas: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
- Cepeda Dovala, J. M. (1991). QUÍMICA DE SUELOS (Segunda ed.). México, México: Trillas S.A de C.V.
- Chin, Y., Alken, G., & Loughlin, E. (1994). MOLECULAR WEIGHT, POLYDISPERSITY AND SPECTROSCOPIC PROPERTIES OF AQUATIC HUMIC SUBSTANCES. *Environ. Sci. Technol.*, 427, 1853-1858.
- Cortés Páez, L., Bravo Realpe, I., Martín Peinado, F., & Menjivar Flores, J. (2014). ADSORCIÓN DE METALES PESADOS EN ANDISOLES, VERTISOLES Y ÁCIDOS HÚMICOS. *Ciencias del suelo*, 64, 61-71.
- Dinesh, G., Simon, R., Samira, S., James, J., Joyce, M., & Yu, Y. (2016). ASYNCHRONOUS REDICTIVE RELEASE OF IRON AND ORGANIC CARBON FROM HEMATITE-HUMIC ACID COMPLEXES. *Chemical Geology*, 430, 13-20.
- Fassbender, H. W., & Bornemisza, E. (1987). QUÍMICA DE LOS SUELOS CON ÉNFASIS EN LOS SUELOS DE AMÉRICA LATINA (Segunda ed.). San José, Costa Rica: IICA.
- García, G., & Ballesteros, G. M. (2005). EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO EN SUELOS. *Revista Colombiana de Química*, 34, 201-209.
- Hans, J. (1941). FACTORS OF SOIL FORMATION. New York: McGraw Hill.

- Islas-Valdez, S. (2014). EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA APLICACIÓN DE BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO EN EL CULTIVO DE CEBADA (HORDEUM VULGARE L.). Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Pachuca Zempoala, Hidalgo, México.
- Jaramillo Jaramillo, D. F. (2002). INTRODUCCIÓN A LA CIENCIA DEL SUELO. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Kai, F., Dongxing, Y., Lei, Z., Lifeng, F., Yaojin, C., & Yuzhou, W. (2015). EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE COMPLEXATION OF IRON AND HUMIC ACID. *Environmental Sciences*, 27, 188-196.
- Kloster, N., Brigante, M., Zanini, G., & Avena, M. (2013). AGGREGATION KINETICS OF HUMIC ACIDS IN THE PRESENCE OF CALCIUM IONS. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng. Aspects*, 427, 76-82.
- Kononova, M. (1982). MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO. Barcelona, España: Oikos-tau.
- Licona Sánchez, T. (2007). EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DE ÁCIDOS HÚMICOS Y SU INTERACCIÓN CON Cu(II) Y Pb(II). En Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hidalgo, México.
- Lizcano, D. (Mayo de 2011). Trabajo de tesis de Licenciatura. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA Y ESPECTROSCÓPICA DE LIGNITOS NACIONALES. Venezuela.
- López Salazar, R. (2014). EFECTO DE UN HUMATO DE CALCIO Y FULVATO DE HIERRO EN LA CALIDAD Y PRODUCCIÓN DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annum* L.) Y PIQUIN (*Capsicum annum* L. aviculare) Y EN LA POROSIDAD EN UN SUELO CALCISOL. (10-20). Marín, Nuevo León: Tesis Doctoral.
- Navarro. (2003). QUÍMICA AGRÍCOLA EL SUELO Y LOS ELEMENTOS ESCENCIALES PARA LA VIDA VEGETAL (Segunda ed.). Madrid: Mundi-Prensa.
- Navarro Blaya, S., & Navarro García, G. (2003). QUÍMICA AGRÍCOLA EL SUELO Y LOS ELEMENTOS ESCENCIALES PARA LA VIDA VEGETAL (2da edición ed.). Madrid: Mundi-Prensa.
- Nieto Velázquez, S., Páez Hernández, M., & Sierra Zenteno, A. (2014). ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DE ÁCIDOS HÚMICOS (AHs) EXTRAÍDOS DE UN SUELO DE HIDALGO Y EVALUACIÓN DE SU AGREGACIÓN CON IONES Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺. Congreso Internacional de Docencia e Investigación Química.

Nieto Velázquez, S. (2010). Trabajo de tesis. ESTABILIDAD DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS Y SU INFLUENCIA EN LA INTERACCIÓN CON Cu(II) Y Pb(II). Mineral de la Reforma, Hidalgo.

NOM-021-SEMARNAT-2000. (2002). Norma Oficial Mexicana . Recuperado el Agosto de 2015, de Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.:

http://www.cmic.org/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Varios/Leyes_y_Normas_SEMARNAT/NOM/suelos/2.%202002.pdf

Oliver Albert, M. (2009). Trabajo de tesis de Doctorado. EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS SUSTANCIAS HÚMICOS SOBRE LOS MECANISMOS DE TOMA DE HIERRO EN PLÁNTULAS DE TOMATE. España.

Ortega T., D. (1981). QUÍMICA DE LOS SUELOS. México: Universidad Autónoma de Chapingo.

Payeras, A. (2011). Bonsai Menorca. Recuperado el 13 de Julio de 2017, de Ácidos húmicos y fúlvicos en bonsái: <http://www.bonsaimenorca.com/articulos/articulos-tecnicos/acidos-humicos-y-acidos-fulvicos/>

Plaza, C., Brunetti, G., Senesi, N., & Polo, A. (2006). MOLECULAR AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF METAL ION BINDING TO HUMIC ACIDS FROM SEWAGE SLUDGE AND SLUDGE-AMENDED SOILS BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY. Environ. Sci. Technol., 3, 917-923.

Ritchie, J., & Perdue, E. (2003). PROTON-BINDING STUDY OF STANDARD AND REFERENCE FULVIC ACIDS, HUMIC ACIDS AND NATURAL ORGANIC MATTER. Geochim. Cosmochim., 67, 85-96.

Ritchie, C. (1992). MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO (Vol. Tomo I Coagulación).

Sandoval Yoval, L., Montellano Palacios, L., Piña Soberanis, M., & Sánchez Guzmán, L. (s.f.). POTENCIAL ZETA COMO UNA HERRAMIENTA PARA DETERMINAR LA AGLOMERACIÓN DE LAS PARTÍCULAS EN LA REDUCCIÓN DEL VOLUMEN DEL LODO A DISPOSER. (I. M. Agua, Ed.)

Schnitzer, M., & Khan, S. (1972). HUMIC SUBSTANCES IN THE ENVIRONMENT. (M. Dekker, Ed.)

Schulteh, H., & Schnitzer, M. (1993). A STATE OF THE ART STRUCTURAL CONCEPT FOR HUMIC SUBSTANCE. Naturwissenschaften.

- Shirshova, L., Ghabbour, E., & Davies, G. (2006). SPECTROSCOPIC CHARACTERIZATION OF HUMIC ACID FRACTIONS ISOLATED FROM SOIL USING DIFFERENT EXTRACTION PROCESSES. *Geoderma*, 133, 204-216.
- Staff, S. S. (1993). SOIL SURVEY MANUAL. Washintong D.C.: United States Department of Agriculture.
- Steelik, C. (1985). IMPLICATION OF ELEMENTAL CHARACTERISTICS OF HUMIC SUBSTANCE. IN HUMIC SUBSTANCE IN SOIL, SEDIMENT AND WATER. Nueva York: John Wiley.
- Stevenson, F. (1994). HUMUS CHEMISTRY: GENESIS, COMPOSITION AND REACTIONS. 2nd Ed. Willey.
- Stevenson, F. J. (1982). HUMUS CHEMISTRY. New York: Wiley.
- Stevenson, F., & Cole, M. (s.f.). CYCLE OF SOIL. New York: John Wiley and sons Inc.
- Tipping, E. (2002). CATION BINDING BY HUMIC SUBSTANCES. West Nyack, N.Y. USA: Cambridge University Press.
- Wandruska, R. (2000). HUMIC ACIDS: THEIR DETERGENT QUALITIES AND POTENTIAL USES IN POLLUTION REMEDIATION. *Springer Open*, 1(10).
- Youlian, Z., Yuanbo, Z., Guanghui, L., Yudong, W., & Tao, J. (2015). A FURTHER STUDY ON ADSORPTION INTERACTION OF HUMIC ACID ON NATURAL MAGNETITE, HEMATITE AND QUARTZ IN IRON ORE PELLETIZING PROCESS: EFFECT OF THE SOLUTION pH VALUE. *Powder Technology*, 155-166.
- Zamboni C., I. R., Ballesteros G. , M., & Zamudio S., A. (2006). CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS Y FÚLVICOS DE UN MOLLISOL BAJO DOS COBERTURAS DIFERENTES. *Revista Colombiana De Química*, 35, 191-203.
- Zeta Meter, I. (1998). EL POTENCIAL Z: UN CURSO COMPLETO EN 5 MINUTOS. Stautun USA, 1-11.