

MODIFICACIONES ESTRUCTURALES EN ÁCIDOS HÚMICOS DURANTE SU EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN: MONITOREO ESPECTROSCÓPICO FTIR Y UV-Vis

Andrés Calderín García^{1,2*}, Wallace Luis de Lima¹, Eduardo Furrázola Gómez³, Fernando Guridi Izquierdo², Ricardo Luis Louro Berbara¹

- 1) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Agronomia, Departamento do Solos, Laboratório de Biologia do Solos. Rio de Janeiro, Brasil. Correo electrónico: cg.andres@gmail.com.
- 2) Universidad Agraria de la Habana (UNAH), Facultad de Agronomía, Departamento de Química, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.
- 3) Instituto de Ecología y Sistemática (IES), Grupo de Micorrizas, Subdirección de Micología, Boyeros, Ciudad Habana, Cuba

Recibido: Junio 2012; Aceptado Septiembre 2012

RESUMEN

Por su complejidad estructural, los ácidos húmicos (AHs) requieren de una metodología de obtención, purificación y caracterización que incluye la utilización de sustancias extractoras, aplicación de temperatura e interacciones con membranas. Este trabajo tuvo como objetivo monitorear mediante métodos espectroscópicos (FT-IR y UV-Vis), las modificaciones ocasionadas en AHs obtenidos a partir de un suelo orgánico y de un vermicompost, usando diferentes procedimientos de extracción y purificación respectivamente. Los extractores utilizados fueron: NaOH 0,1 mol·L⁻¹; H₂O₂ 1,5% y Na₄P₂O₇ 0,3 mol·L⁻¹ y dos formas de purificación: aplicación de temperatura y purificación con membrana (acetato de celulosa). Los espectros FTIR mostraron modificaciones de grupos funcionales verificados en bandas de estiramientos y desdoblamientos, tanto en la extracción como en la purificación. Los espectros UV-Vis reafirmaron lo encontrado en los FTIR, aportando además informaciones en cuanto a modificaciones en el grado de condensación aromática y la masa molar. El peróxido de hidrógeno fue el extractor que mayores modificaciones ocasionó en la estructura de los ácidos húmicos y la aplicación de temperatura resultó el proceso más agresivo de los utilizados para la purificación.

Palabras claves: ácidos húmicos, FTIR, UV-Vis.

ABSTRACT

By their structural complexity, humic acids (AHs) require a methodology for obtaining, purification and characterization comprising the use of substances extractor temperature application and interactions with membranes. This study aimed to monitor by spectroscopic methods (FT-IR and UV-Vis), caused changes in AHs obtained from an organic soil and a vermicompost using different extraction and purification procedures respectively. The extractors used were: NaOH 0.1 mol·L⁻¹; H₂O₂ 1.5% and 0.3 Na₄P₂O₇ mol·L⁻¹ and two forms of purification: application of temperature and membrane purification (ethyl cellulose). FT-IR spectra showed changes in functional groups checked splits and stretching bands both in the extraction as in the purification. UV-Vis spectra reaffirmed that found in the FTIR, also providing information as to changes in the aromatic condensation degree and the molar mass. The hydrogen peroxide was the extractor that major modifications caused in the structure of AHs and application of temperature was more aggressive than those used for purification.

Key words: humic acids, FTIR, UV-Vis

1. INTRODUCCIÓN

La estructura de las sustancias húmicas (SH) y los ácidos húmicos (AHs) ha sido explicada por algunos modelos semejantes a polímeros. Estos biopolímeros naturales son reconocidos como la fuente más estable de carbono en la corteza terrestre. Sus efectos sobre plantas y organismos ha traído como consecuencia la búsqueda incesante de su caracterización estructural para explicar sus propiedades y actividad biológica. Para esto ha sido necesario aislarlas de su medio natural [1,2]. Diferentes sustancias son reportadas como eficientes extractores de SH, sin embargo, no siempre

son estudiadas las modificaciones que se producen en la estructura de los AHs cuando son utilizados indistintamente. Resulta novedoso por tanto conocer estas implicaciones en su obtención y purificación, teniendo en cuenta las afectaciones que traen consigo los cambios estructurales sobre la actividad biológica de cualquier sustancia. El hidróxido de sodio (NaOH) es reportado como uno de los más eficientes extractores, con alrededor de un 80% de rendimiento, seguido del pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$), con cerca del 30%. También el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) resulta un extractor importante de acuerdo con las posibilidades de interacción que presentan con las SH en el medio natural, tanto acuático como terrestre, siendo utilizado además como desagregante de la fracción arcillosa y la materia orgánica de suelo [3].

En la metodología propuesta por la sociedad internacional de sustancias húmicas (*Internacional Humic Substances Society–IHSS*), se establecen pasos para separar, precipitar y liofilizar los AHs, además de la interacción con membranas [4], partiendo de que estas sustancias son unidades estructurales unidas por interacciones débiles como fuerzas de *van der Waals* y enlaces de hidrógeno, que conforman una estructura de elevada complejidad supramolecular [5,6]. Por estas razones, las SH presentan múltiples posibilidades de interacción a través de grupos funcionales de diversa naturaleza química, lo que les confiere un elevado grado de reactividad. Esto exige un análisis riguroso de los procedimientos empleados en su extracción y purificación, buscando minimizar los errores en la caracterización estructural. Este trabajo tiene como objetivo el estudio de las diferencias espectrales detectadas mediante un estudio espectroscópico FTIR y UV–Vis en AHs obtenidos mediante diferentes extractores (NaOH, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ y H_2O_2) y purificados mediante la aplicación de temperatura para el secado y pasados por membrana de acetato de celulosa.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Obtención de AHs con diferentes extractores. Los AHs fueron extraídos a partir de un suelo orgánico, según el procedimiento de la IHSS [7] adaptado del original [8]. Además del NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), fueron utilizados como extractores, el H_2O_2 (1,5%) y $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ($0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), a razón de suelo extractor 1:10 m:v. El suelo utilizado es clasificado como *Organosolo Tiomórfico Sáprico* típico, proveniente de *Rodovia Rio–Santos*. BR 101, del barrio de *Santa Cruz*, *Rio de Janeiro*.

A partir de tres masas iguales de suelo (20 gramos) se adicionaron a cada una 200 mL de cada extractor, permaneciendo en reposo 16 horas sobre atmósfera inerte de N_2 . La separación de los AH fue conseguida por precipitación con HCl $6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ hasta $\text{pH} \approx 1,0$. Nuevamente fue solubilizado y vuelto a precipitar para posteriormente ser lavado con agua destilada. Seguidamente se adicionaron 200 mL de una solución acuosa diluida de HF $0,25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y HCl $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ agitando por 8 horas. Los AHs fueron separados por decantación y centrifugación, retirando el exceso de iones mediante

diálisis contra agua desionizada. Los extractos de AHs alcalinos solubles fueron secos por liofilización. Los ácidos húmicos obtenidos utilizando NaOH fueron denominados AHH, los obtenidos mediante H₂O₂: AHP y mediante Na₄P₂O₇: AHPi.

2.2. AHs purificados mediante diferentes procedimientos. Los AHs fueron extraídos de un vermicompost de estiércol vacuno con 70 días de maduración, producido en la *SIPA-Fazendinha, Agroecológica*, km 7 de la BR 465, localizada en el municipio de *Seropédica, Río de Janeiro*. La extracción fue realizada como se explica en el epígrafe 2.1. Los AHs obtenidos después de la liofilización fueron denominados AHR. Una masa de AH después de la liofilización, fue disuelta en solución de NaOH 0,05 mol·L⁻¹ y posteriormente calentado en autoclave a 121°C durante 15 minutos con presión de 152 kPa. Los AHs secos fueron denominados AHT. De esta misma manera, otra muestra de AHs, fueron purificados mediante una membrana de filtro *Millipore* (acetato de celulosa) con diámetro de 0,25 µm, los que fueron denominados AHM.

2.3 Espectroscopia FTIR y UV-Vis. Los espectros infrarrojo con transformada de *Fourier* (FTIR) de los AHs, se realizó en el intervalo de número de ondas de 400 a 4.000 cm⁻¹, utilizándose pastillas con 1 mg de AH en 100 mg de KBr, con corrección de la línea base para absorción igual a cero en 4.000 cm⁻¹ y posteriormente en 2.000 cm⁻¹. Los espectros UV-Vis fueron obtenidos a partir de una masa de 10 mg de AH disueltos en 100 mL de agua destilada, en el intervalo de longitud de onda desde 200 hasta 800 nm. Las absorbancias a las longitudes de ondas de 465 y 665 nm fueron usados para calcular la relación E₄/E₆ y los parámetros de inclinación fueron obtenidos partiendo de la fórmula [9]:

$$\text{Inclinación} = -6,435 \cdot \log\left(\frac{E_4}{E_6}\right)$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Modificaciones en los espectros FT-IR de AHs con diferentes extractores. La Figura 1 muestra los espectros FTIR de cada ácido húmico obtenido con los diferentes extractores. Teniendo en cuenta que el extractor más adecuado y utilizado es NaOH, las comparaciones se harán tomándolo como extractor de referencia. En el espectro perteneciente a AHH, se registra una banda ancha en 3.434,1 cm⁻¹ correspondiente a estiramientos de grupos (- O - H) de diferente naturaleza (carboxílica, fenólica, alcohólica) y estiramientos (- N - H) asociados mediante enlaces de hidrógeno, inter e intramoleculares. Las bandas en los 2.927,4 y 2.856,1 cm⁻¹ pertenecen a estiramientos (- C - H) antisimétricos y simétricos respectivamente de CH₂ de cadenas alifáticas. La banda registrada en 1.718,2 cm⁻¹ es característica de estiramientos de grupos (- C = O) de diferentes naturaleza (ácidos carboxílicos, aldehídos, etc.). En 1.625,7 cm⁻¹ se registra una banda

bien definida correspondiente a estiramientos de grupos funcionales ($-C=C-$) de estructuras aromáticas, donde también pueden estar contribuyendo los estiramientos ($-C=O$) de quinonas y/o cetonas conjugadas. Una banda ancha registrada con centro alrededor de 1.430 cm^{-1} , se atribuye a vibraciones de diferentes grupos contribuyentes, entre ellos, deformaciones ($-C-H$) de anillos aromáticos, estiramientos ($-C-O$) de fenoles y carboxilos, así como deformaciones ($-C-H$) de CH_2 y CH_3 . Las bandas consecutivas a los $1.033,6$ y $1.008,6\text{ cm}^{-1}$ se corresponden con vibraciones ($-C-O$) asociadas a estructuras de restos de polisacáridos, carbohidratos y ésteres aromáticos. Una banda en 912 cm^{-1} debe corresponder a la deformación angular fuera del plano de ($-C=C-$) de estructuras ($-CH=CH_2-$). Las bandas en la región comprendida entre 500 y 800 cm^{-1} se asigna a vibraciones de ($-H$) de anillos aromáticos sustituidos [10].

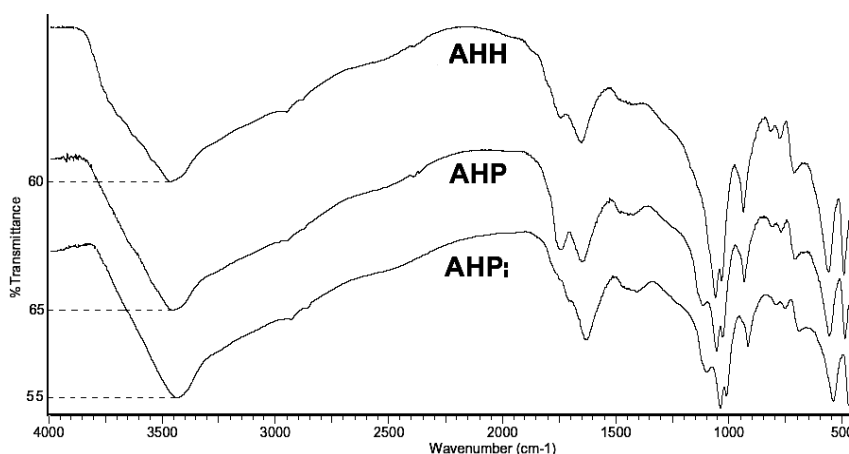


Figura 1. Espectros FTIR de los AHs con diferentes extractores.

En AHP, se encontró intensificación y mayor definición de la banda en $1.728,2\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a carbonilos; lo que sugiere la posibilidad de que el peróxido de hidrógeno produzca oxidaciones en algunos hidroxilos disponibles superficialmente en la estructura de los AH. Una nueva banda fue encontrada en $1.095,3\text{ cm}^{-1}$, asignada a estiramientos ($-C-O$) correspondientes a estructuras tipo ésteres [11]. Estas modificaciones producidas, aún a nivel superficial, provocan reorganizaciones que parecen involucrar estructuras carbonílicas y cadenas carbonadas a niveles estructurales más externos, reafirmado además por la permanencia del resto de las bandas.

En el espectro del AHPi, la banda $1.720,2\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a ($-C=O$) de ácidos carboxílicos, se encuentra debilitada con respecto a los espectros AHH y AHP, sugiriendo que el pirofosfato de sodio puede producir la sustitución debido al proceso de solvatación ocurrido en la extracción, de hidrógenos por sodio en los hidróxilos pertenecientes a COOH , eliminando entonces los sitios de enlaces para las interacciones por enlaces de hidrógeno, lo que implicó reordenamientos para formar nuevos enlaces con estos carbonilos que quedan disponibles. Además,

es visible la banda en $1.095,3 \text{ cm}^{-1}$, típico de ésteres, reafirmando el nuevo reordenamiento estructural planteado, en el que nuevos enlaces tipo ésteres son formados a través de estos C=O disponibles, capaces de brindar una nueva conformación estructural estable.

La Figura 2, muestra los espectros UV-Vis y el gráfico de obtención de la inclinación para los AHs obtenidos con los diferentes extractores. Los espectros mostraron diferencias en cuanto a la absorción, en la región perteneciente a estructuras aromáticas e insaturadas. En el espectro AHH, se observa la mayor absorción, sugiriendo que los AH aislados con hidróxido desodio, presentan mayor cantidad de estas estructuras con electrones en orbitales π (aromáticas, dobles y triples enlaces).

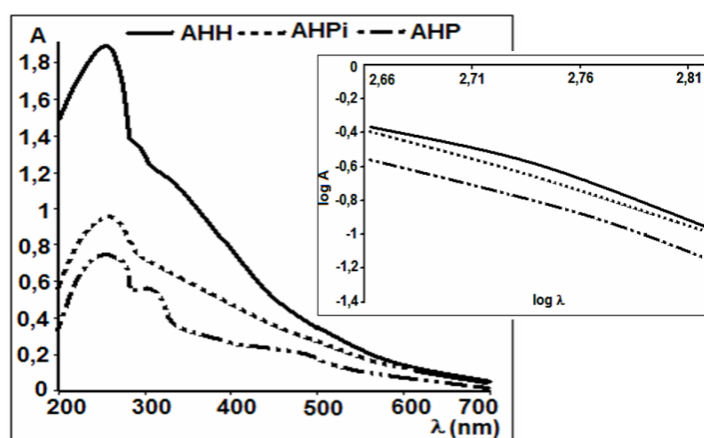


Figura 2. Espectros UV-vis y gráfico de inclinación (460–660 nm), de los AHs obtenidos con los diferentes extractores.

La presencia en el espectro de AHP de un “hombro” cerca de los 280 nm, correspondiente a estructuras de tipo quinona reafirma la oxidación producida y discutida anteriormente sobre los hidroxilos [12]. La presencia de este hombro en el espectro AHPi, no se manifiesta con claridad, lo que es debido al reordenamiento explicado según los espectros FT-IR. La Tabla 1 muestra algunas propiedades relacionadas con las características estructurales de los AH obtenidos.

Tabla 1. Algunas propiedades estructurales de los AHs extraídos.

Muestra de AH	$\frac{1625}{C_{\text{aromático}}} / \frac{2927}{C_{\text{alifático}}}$	$\frac{1625}{C_{\text{aromático}}} / \frac{2856}{C_{\text{alifático}}}$	E_{465}/E_{665}	Inclinación
AHH	0,95	0,91	3,77	- 3,70
AHPi	0,92	0,87	3,79	- 3,72
AHP	0,88	0,84	4,18	- 3,99

La relación $C_{\text{aromático}}/C_{\text{alifático}}$, resultó mayor para los AHs extraídos con hidróxido de sodio que para los extraídos con pirofosfato de sodio y peróxido de hidrógeno. Este comportamiento indica

que estos últimos presentan mayor cantidad de estructuras alifáticas que olefínicas y/o insaturadas, resultando coherente con la baja absorbancia mostrada en los espectros UV-Vis en las longitudes de ondas correspondientes a estas estructuras. Así mismo, la relación E_4/E_6 de los AHs extraídos con hidróxido de sodio y pirofosfato, no mostraron valores muy diferentes entre sí; sin embargo, un ligero aumento fue encontrado para los extraídos con peróxido. Al parecer, los procesos de oxidación y el reordenamiento, influyeron directamente en el grado de condensación aromática. Los valores de inclinación de la rectas en el intervalo de 460–660 nm, no presentaron diferencias importantes en cuanto a su magnitud, lo que sugiere que estos extractores aparentemente no influyen en la masa molar de los ácidos húmicos extraídos.

3.2. Modificaciones de los AHs con diferentes procedimientos de purificación. La Figura 3 muestran los espectros FTIR de los AHs para los distintos procesos de purificación a los que fueron sometidos los AH extraídos del vermicompost.

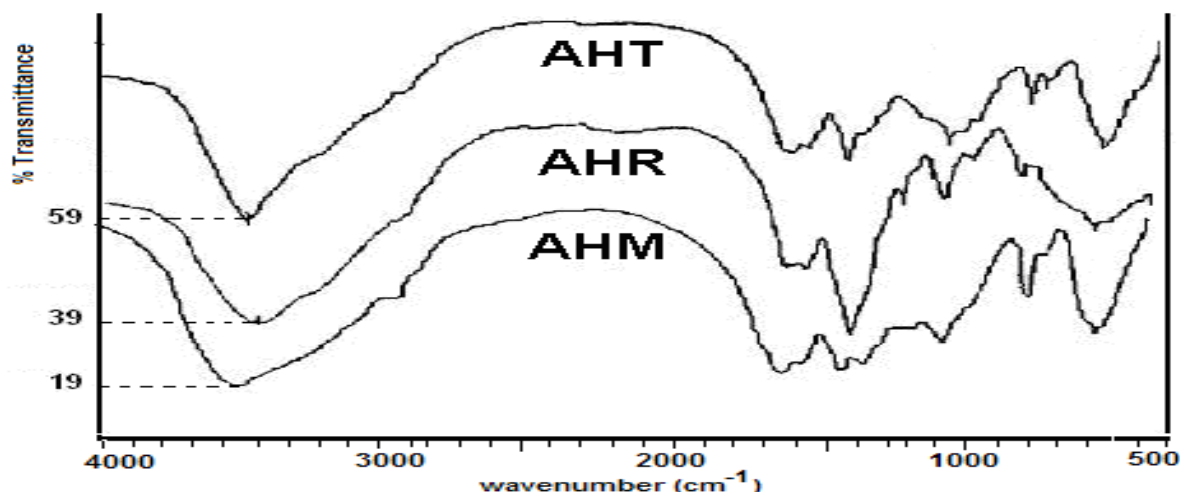


Figura 3. Espectros FTIR de los AHs extraídos mediante los diferentes procedimientos.

En el espectro AHR, la banda ancha a los $3.445,3 \text{ cm}^{-1}$ corresponde a estiramientos ($-\text{O}-\text{H}$) asociados por enlace de hidrógeno inter e intramoleculares, a la que contribuyen también las vibraciones ($-\text{N}-\text{H}$). En $1.661,5 \text{ cm}^{-1}$ se expresan los estiramientos ($-\text{C}=\text{O}$) de amidas, con la posible influencia de ($-\text{C}=\text{O}$) de estructuras de quinonas. En $1.595,0 \text{ cm}^{-1}$ aparecen estiramientos ($-\text{C}=\text{C}$) de estructuras aromáticas e insaturaciones de alquenos, además de deformaciones ($-\text{N}-\text{H}$) y estiramientos ($-\text{C}=\text{N}$) de amidas. La señal en $1.447,6 \text{ cm}^{-1}$ es asignada a las deformaciones del grupo ($-\text{C}-\text{H}$) de estructuras alifáticas, influyendo la de ($-\text{C}-\text{O}$) de éteres en esa región del espectro. En $1.269,2 \text{ cm}^{-1}$ están los estiramientos y deformación ($-\text{C}-\text{O}$) de alcoholes. Para la banda en $1.130,9 \text{ cm}^{-1}$ se asignan estiramientos ($-\text{C}-\text{O}$) de estructuras de polisacáridos. En 1.030 cm^{-1} aparecen los estiramientos de ($-\text{C}-\text{O}-\text{H}$) pertenecientes a residuos de alcoholes. La señal que aparece a 873 cm^{-1} puede corresponder a vibraciones de ($-\text{H}$) de anillos aromáticos sustituidos,

mientras la banda en 624 cm^{-1} se asigna a la deformación fuera del plano perteneciente a ($\text{C} = \text{C}$) de anillos aromáticos [13,14].

En el espectro AHT, la banda $3.469,3\text{ cm}^{-1}$ de los estiramientos $-\text{O}-\text{H}$ experimentó un corrimiento hacia números de onda más altos, indicando la ruptura de interacciones por enlaces de hidrógeno. Las bandas en 1.646 y 1.600 cm^{-1} son diferentes en posición, forma e intensidad que las registradas para AHR, lo que sugiere que pertenecen a estructuras ($-\text{C} = \text{C}-$) de alquenos conjugados. Las bandas en la región de 1.400 cm^{-1} también experimentaron cambios significativos (disminución en intensidad, en ancho) y la aparición de una ondulación, que no existían en el espectro del AHR. Las bandas en $1.463,0$ y 1.450 cm^{-1} (asignados a deformaciones de $-\text{CH}_2$ y vibraciones de $-\text{O}-\text{CH}_3$) evidencian que han ocurrido reordenamientos estructurales. La banda en $1.122,7\text{ cm}^{-1}$ en este espectro apareció corrida hacia menor número de onda, surgiendo ondulaciones asociadas que se asignaron a vibraciones ($-\text{C}-\text{O}$) de éteres, (confirmando la asignación a la banda anterior) y vibraciones ($-\text{C}-\text{O}$) de alcoholes. Las bandas en las regiones menores de 800 cm^{-1} se registraron más estrechas, indicando posibles rupturas de los enlaces que unen los fragmentos aromáticos en los AHs. En el espectro AHM, la banda en $3.466,5\text{ cm}^{-1}$, experimentó un corrimiento a mayor número de onda, manteniendo una forma similar a la encontrada en AHR, lo que sugiere que la interacción AH-membrana no modifica las interacciones que involucran estos grupos funcionales. Las bandas en $1.652,1$ y $1.600,0\text{ cm}^{-1}$ fueron igualmente expresadas en posición y forma que en AHT, por lo que fueron asignadas de la misma manera, encontrándose entonces que los carbonilos encontrados en AHR, al parecer, son grupos funcionales que establecieron interacciones (presumiblemente por enlaces de hidrógeno) con los grupos metilos en los acetatos de la membrana, lo cual produce un aumento en la expresión de aquellas bandas que presentan menor posibilidad de interacción, como las estructuras insaturadas conjugadas.

Para el espectro AHM aparece una banda en $1.392,3\text{ cm}^{-1}$ no detectada en los anteriores, típica de deformaciones angulares de ($-\text{C}-\text{O}$) de carboxilos, dada la posibilidad de resonancia estructural que presenta este grupo funcional, que posibilita interacciones entre el hidrógeno en los AHs y los carbonilos de los acetatos en la membrana, dejando más disponibles las vibraciones $\text{C}-\text{O}$, expresándose con mayor facilidad. La banda en $845,3\text{ cm}^{-1}$ tuvo una forma más aguda, por modificaciones de las interacciones entre los hidrógenos asociados a estructuras aromáticas con el paso de los AHs a través de la membrana. La banda en $613,3\text{ cm}^{-1}$ también presentó una forma más aguda e intensa, lo cual reafirma lo anterior con respecto a una mayor permanencia y poca interacción de los compuestos más condensados y/o aromáticos con la membrana.

La Figura 4, muestra los espectros UV-Vis, correspondientes a los AHs en cuestión. Los espectros UV-Vis de los distintos AHs, mostraron diferencias espectrales, fundamentalmente en la

zona de mayor absorción, comprendida entre 200 y 350 nm aproximadamente. El espectro correspondiente a AHR, mostró características similares a los reportados en la literatura para estas sustancias [1], un máximo de absorción en la región de 200 nm y 300 nm, típica de estructuras aromáticas e insaturadas y un “hombro” próximo a los 300 nm, correspondiente estructuras de quinonas. El espectro correspondiente a AHM, presentó semejanzas en cuanto a la absorción máxima de las estructuras aromáticas y estructuras con electrones en orbitales π , lo cual indica que la interacción con la membrana de acetato de celulosa no produce alteraciones en estas estructuras. Sin embargo, la absorción del “hombro” pertenecientes a quinonas resultó disminuida, reafirmando lo encontrado en la espectroscopia IR, sobre la interacción de estos grupos y la membrana.

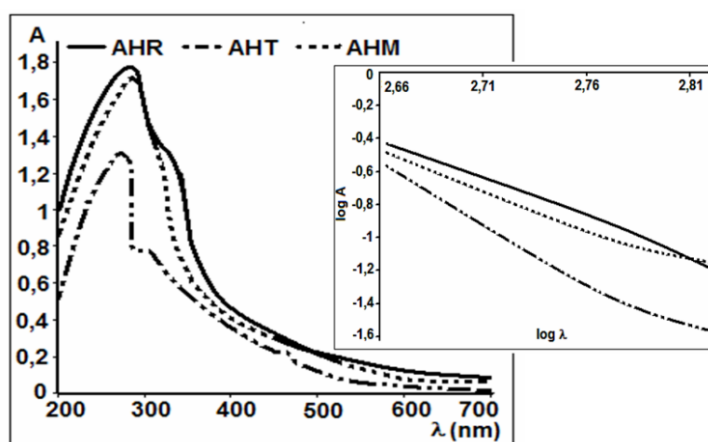


Figura 4. Espectros UV-Vis y gráfico de inclinación (460–660 nm) de los AHs purificados con diferentes procedimientos.

En el espectro AHT, se observa que la temperatura es capaz de producir modificaciones estructurales de los fragmentos que absorben en esta zona e influir directamente en la cantidad de estructuras con enlaces insaturados, presumiblemente porque la ruptura de las interacciones más débiles, y la formación de nuevos enlaces, comprometen estos fragmentos estructurales con electrones π antes disponibles, responsables de la absorción de la radiación en esta zona.

La Tabla 2 muestra algunas propiedades relacionadas con las características estructurales de los AH después de purificados.

Tabla 2. Algunas propiedades estructurales de los AHs purificados.

<i>Muestra de AH</i>	$\frac{1.595}{c_{aromático}} / \frac{2.921}{c_{alifático}}$	$\frac{1.595}{c_{aromático}} / \frac{2.824}{c_{alifático}}$	E_{465}/E_{665}	<i>Inclinación</i>
AHR	0,60	0,61	4,95	– 4,46
AHT	0,79	0,78	10,1	– 6,46
AHM	0,62	0,60	4,96	– 3,84

Los valores obtenidos en la relación $C_{\text{aromático}}/C_{\text{alifático}}$ para AHT, evidencia que después del tratamiento con temperatura, la relación aumenta su valor con respecto a AHR, esto sugiere la eliminación de estructuras alifáticas menos fuertemente enlazadas, permaneciendo estructuras aromáticas de mayor estabilidad. Esto reafirma lo encontrado en los espectros FTIR para estos AHs, en los que las bandas más significativas, resultan las correspondientes a estructuras aromáticas e insaturadas. No fueron encontrados valores que difieran apreciablemente en la relación para AHM con respecto a AHR, lo que indica que la interacción con la membrana no produce cambios estructurales ni modificaciones en la cantidad de fragmentos aromáticos con respecto a los alifáticos. La relación E_4/E_6 demostró que una aplicación de temperatura para AHT produce disminución en la estabilidad estructural, disminuyendo la condensación aromática y el grado de polimerización. La inclinación de la recta muestra que el suministro de esta temperatura es capaz de provocar pérdidas en la masa molar de AHR, indicando que estos AHs son inestables térmicamente bajo las condiciones de estudio empleadas.

De manera general, se han encontrado coherencias a los estudios térmicos estructurales realizados con AHs extraídos de aguas subterráneas, donde se establece que la aplicación de temperatura a partir de 70 y hasta 140°C produce pérdidas irreversibles de aguas, dióxido y monóxido de carbono [15]. También están reportados evidencias de algunos cambios estructurales de los grupos funcionales en los espectros FTIR de ácidos húmicos obtenidos a partir de extractores como sales orgánicas de sodio, con un pretratamiento del suelo con mezclas de benceno en metanol, donde son visibles la expresión de bandas asociadas a grupos alifáticos y aromáticos atendiendo al protocolo usado [16]. Estos procesos como posibles alternativas en la obtención y purificación de AHs, pueden ocasionar modificaciones estructurales, fundamentalmente en la disposición de los grupos funcionales y algunas propiedades estructurales y por tanto, importantes reordenamientos que pueden traer como consecuencia en la relación estructura-actividad biológica. Los cambios en cuanto a la forma de las bandas, su intensidad, así como la expresión de éstas, constituyen evidencias de interacciones inducidas en la estructura natural de los ácidos húmicos, una prueba más de su complejidad y al mismo tiempo de su elevada reactividad.

CONCLUSIONES

En la obtención, el peróxido de sodio provocó oxidaciones en la estructura de los AH, presumiblemente de grupos hidroxilos a carbonilos, confirmado mediante un aumento en la intensidad de la banda $1.728,2 \text{ cm}^{-1}$; además de la afectación en la condensación aromática debido a un aumento en la relación E_4/E_6 y la disminución en la relación $C_{\text{aromático}}/C_{\text{alifático}}$. El pirofosfato de sodio provocó disminución en la banda correspondiente a grupos funcionales carbonilos, presumiblemente por la formación de nuevos enlaces de estos grupos, sin modificar la condensación

aromática ni su relación de carbonos aromáticos y alifáticos. Para ambos extractores no fueron encontrados pérdidas en cuanto a la masa molar.

En el proceso de purificación, la aplicación de temperatura resultó más agresivo, provocando ruptura de enlaces en la estructura de los AHs, observado por la disminución en la amplitud de la banda en $3.469,3\text{ cm}^{-1}$ del espectro AHT. Además disminuyó el carácter aromático y el grado de condensación y se provocaron pérdidas en la masa molar de los AHs. La interacción con membrana ocasionó reordenamientos estructurales detectados por FTIR, sin cambios en la relación de estructuras aromáticas y alifáticas, el grado de condensación aromática y la masa molar de los AHs.

Agradecimientos. Al “Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq). A la “Academia de Ciencias para el Desarrollo Mundial” (TWAS). A “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES). Por las posibilidades de bolsa y apoyo a las investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Schaumann GE, Thiele–Bruhn S “Molecular modeling of soil organic matter: Squaring the circle?”, *Geoderma*, **166**, 1 (2011)
- [2] Canellas PL, Araujo SG “Humosfera, Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas”, *Seropédica e campos dos Goytecazes*, 2006.
- [3] Herrera–Peraza RA, Furrázola E, Ferrer RL, Fernández VR, Arias TY “Functional strategies of root hairs and arbuscular mycorrhizae in an evergreen tropical forest, Sierra del Rosario, Cuba”, *Revista Cenic, Ciencias Biológicas*, **35(2)**, 113 (2004)
- [4] Lowe J, Hossain MM “Application of ultrafiltration membranes for removal of humic acid from drinking water”, *Desalination*, **218**, 343 (2008)
- [5] Dick DP, Burba P, Herzog H “Influence of extractant and soil type on molecular characteristics of humic substances from two Brazilian soils”, *J. Brazilian Society*, **10(2)**, 140 (1999)
- [6] Piccolo A “The supramolecular structures of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soils science”, *Adv. Agron.*, **75**, 57 (2002)
- [7] Swift R “Organic matter characterization”. p. 1011–1069, en DL Sparks (Ed) *Methods of soils analysis*. Part. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI. (1996)
- [8] Benites VM, Madari B, Machado PL “Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo”, *Comunicado técnico. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento*, 2003.
- [9] Chen Y, Senesi N, Schnitzer M “Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios”. *J. Soils Sci. Soc. Am.*, **41**, 352 (1977)
- [10] González–Pérez M, Torrado PV, Colnago LA, Martín–Neto L, Otero XL, Milori DMBP, Haenel GF “ ^{13}C NMR and FTIR spectroscopy characterization of humic acids in spodosols under tropical rain forest in southeastern Brazil”, *Geoderma*, **146(3–4)**, 425 (2008)
- [11] Vaca–Paulín R, Esteller–Alberich MV, Lugo–de la Fuente J, Zavaleta–Mancera HA “Effect of sewage sludge or compost on the sorption and distribution of copper and cadmium in soil”, *Waste Management*, **26**, 71–81 (2006).
- [12] Ghost K, Schintzer M “UV and visible absorption spectroscopic investigations in relation to macromolecular characteristics of humic substances”, *J. Soil Sci.*, **30**, 735 (1979)
- [13] Duanping X, Shuquan Z, Hong C, Fasheng L “Structural characterization of humic acids isolated from typical soils in China and their adsorption characteristics to phenanthrene”, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **276**, 1 (2006)
- [14] Fong SS, Mohamed M “Chemical Characterizations of humic substances occurring in the peat of Sarawak, Malaysia”, *Organic Geochemistry*, **38**, 967 (2007)
- [15] Kolokassidou C, Pashalidis I, Costa CN, Efstathiou AM, Buckau G “Thermal stability of solid and aqueous solutions of humic acid”, *Thermochimica Acta*, **454**, 78 (2007)

- [16] Shirshova LT, Ghabbour EA, Davies G “Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures”, *Geoderma*, **133(3–4)**, 204 (2006)