

DETERMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN MUESTRAS DE SUELO, COMO INDICADOR EN EL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS (AHS)

S. Nieto-Velázquez, K. Carpio-Domínguez, M. E. Páez-Hernández

Área Académica de Química, Ciudad del Conocimiento, UAEH, Mineral de la Reforma, Hidalgo.
nieto@uaeh.edu.mx

RESUMEN

En esta investigación se realizó la determinación de los porcentajes de: carbono orgánico total (%COT), materia orgánica (%MO) y nitrógeno (%N) en tres muestras de suelo (Atotonilco, Tulancingo y Real del monte) del estado de Hidalgo, como un indicador o parámetro relacionado con la calidad y la obtención de un alto rendimiento de ácidos húmicos (AHs). Empleando los métodos de Walkley y Black (1979) (por volumetría y espectrofotometría), se obtuvo el 1.26-1.69% COT, 2.17-2.91% MO y 0.109-0.145% N para la muestra de suelo Atotonilco (SA) mostrando un resultado muy cercano al 5% de MO tal y como se reporta en la literatura, sin embargo estos resultados son mayores comparados con las muestras de suelo Tulancingo (ST) y Real del monte (SRM). Por otro lado, al realizar la extracción de AHs por el método de Kononova (1982), el cual es un método económico, rápido y eficiente, se pudo corroborar que con la muestra de ST también se extrajo AH, obteniendo un rendimiento de extracción del 4% y del 7% para el SA. Se encontró una relación del %MO con el *porcentaje de rendimiento de extracción* de los AHs, llevado a cabo el siguiente orden: SA > ST. Es importante señalar que los valores obtenidos (%COT, %MO y %N) de la muestra de SRM son muy similares al ST, no obstante, con este tipo de suelo no se logró precipitar al AH, suponemos que por la elevada concentración de hierro que presenta y la formación de posibles interacciones moleculares con el AH en medio ácido (AH-Fe). Por lo cual, se continúa con la caracterización de estas tres muestras de suelo para aumentar la calidad y el porcentaje de rendimiento de extracción de los AHs.

Palabras Clave: Suelo, COT, MO, AHs, Rendimiento de extracción.

ABSTRACT

The analysis of total organic carbon (%TOC), organic matter (%OM) and nitrogen (%N) in three soil samples (Atotonilco, Tulancingo and Real del monte) of Hidalgo state were performed in this work. These parameters were used as an indicator of the amount and the quality of humic acids (HAs) present in the soil samples. For the Atotonilco sample soil (AS) values of 1.26-1.69% of TOC, 2.17-2.91% for OM and 0.109-0.145% of N were obtained using the Walkley and Black methods (titration and spectrophotometric techniques, respectively). Regarding to the organic matter percentage (%OM) just the Atotonilco sample (AS) had a value close to that reported in the literature

(5%); the others soil samples, Tulancingo (TS) and Real del Monte (RMS), were even lower. On the other hand, the extraction of HAs was performed with the method of Kononova, an economic, fast and efficient method. Using this method, the HA content obtained from TS and AS was 4% and 7%, respectively. According to this, a correlation between %OM and the amount of HA in the soil was found, in the following order: **AS > TS**. In the case of RMS sample, their percentages of TOC, OM and N are similar to the TS sample; however, the HA extraction from RM soil was not possible probably because of the high concentration of iron in the samples, and the formation of molecular interactions HA-F in acidic medium. Therefore, the characterization of the three soil samples will continue in order to increase the quality and the amount of HAs extracted.

Palabras Clave: Soil, TOC, OM, HAs, HAs extraction

1. INTRODUCCIÓN

Los suelos son sistemas complejos formados principalmente por materia inorgánica y materia orgánica (MO), como principal clasificación de la MO se divide en moléculas pequeñas (aminoácidos, carbohidratos, proteínas, péptidos, lípidos, ácidos orgánicos de bajo peso molecular, entre otros) y en sustancias húmicas (SHs), también conocidas con el nombre de humus [1]. Existen cuatro mecanismos teóricos propuestos acerca del proceso de formación de las SHs, interviniendo en cada uno de ellos múltiples moléculas y una gran diversidad de reacciones químicas, así 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 [1-2]. Las SHs están formadas por huminas (Hs), ácidos fúlvicos (AFs) y ácidos húmicos (AHs), que logran extraerse de forma separada de acuerdo a la solubilidad que presentan en diferentes disolventes [3-4]. Las características físicas y químicas de los componentes de las SHs (AHs, AFs y Hs) difieren principalmente por la intensidad de color, la variación en el peso molecular, grado de polimerización, tipo y número de grupos funcionales, acidez total (AFs 9-14 meq/g, AHs 4-8.7 meq/g) y solubilidad [5]. Por otro lado, es importante mencionar que los AHs se consideran los componentes principales de la MO de suelo, agua y sedimentos, son insolubles en medio acuoso bajo condiciones ácidas ($\text{pH} < 2$) pero son solubles a valores de pH mayores; tienen una carga negativa y su color en solución es café [6-7]. Todas las características que se acaban de mencionar se deben a la gran cantidad y variedad de grupos funcionales que poseen en su estructura, sobre todo grupos carboxílicos y fenólicos (-COOH y -OH). Es por ello que pueden interactuar con todo tipo de iones metálicos, agroquímicos, elementos radioactivos, entre otros. Modificando la transferencia, fijación o biodisponibilidad de los iones en sistemas ambientales. Los AHs están encontrando amplias aplicaciones en diferentes áreas como en 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. Es por ello que en este trabajo de investigación se pretende determinar el porcentaje de carbono orgánico total (%COT), porcentaje de materia orgánica (%MO) y el porcentaje de nitrógeno (%N) en tres muestras de suelo (Atotonilco, Tulancingo y Real del monte) del estado de Hidalgo, como un indicador o parámetro relacionado con la calidad y la obtención de un alto rendimiento de AHs [8-9], con la finalidad de aplicar un método de extracción que sea económico rápido y eficiente.

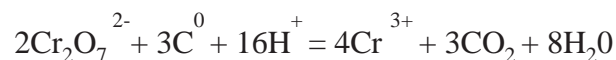
2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

• OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SUELO.

Se muestrearon tres suelos de lugares no contaminados en el estado de Hidalgo (Atotonilco, Real del Monte y Tulancingo), son suelos de lugares boscosos con constante degradación o transformación de la biomasa vegetal y animal. Las muestras obtenidas se secaron a una temperatura de 60 °C, posteriormente se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de 1.0 mm y se colocaron en recipientes completamente limpios y herméticos.

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

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) [10]. El análisis consiste en la oxidación de carbono con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en un medio fuertemente ácido hasta la formación de CO_2 , según la siguiente ecuación química:



La cantidad de oxígeno utilizado para oxidar el carbono orgánico se determina por la diferencia entre la cantidad de $K_2Cr_2O_7$ requerido en la oxidación y la que quedó después de ésta, es decir valorando el exceso de $K_2Cr_2O_7$ con una solución de sal de Mohr (sulfato ferroso amoniacal $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$). Otro método por el cual también se puede cuantificar el COT es mediante una técnica espectroscópica (espectrofotómetro LAMBA 40) a una longitud de onda de 590 nm [10].

(a) Determinación de COT por un método volumétrico.

Procedimiento:

Por este método el COT se cuantifico pesando 0.25 g de muestra de suelo ya preparada como se describió anteriormente, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, por triplicado (realizando

también un blanco). Posteriormente, se les adiciono 5 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0.17 M girando el matraz para que entre en contacto con toda la muestra, se agregó cuidadosamente 10 mL de H_2SO_4 concentrado girando nuevamente el matraz y agitando durante un minuto con mucho cuidado evitando salpicaduras. Se dejó reposar durante 30 min en la campana de extracción, se añadieron 2.5 mL de H_3PO_4 concentrado para evitar interferencias con Fe^{3+} , se adicionaron de 1 a 2 gotas del indicador (difenilamina al 0.5% en ácido sulfúrico). Finalmente se valoró con una disolución de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 0.5 N gota a gota hasta un punto final de color verde brillante.

El porcentaje de CO se calculó utilizando la siguiente ecuación:

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

Donde:

V_B = Volumen gastado de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ en el blanco

V_M = Volumen gastado de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ en la muestra

g = Cantidad en gramos de muestra de suelo

N = Normalidad de la solución de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$

0.3 = Factor

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

1.724 = 100/58 considerando que la MO contiene 58% de CO

(b) Determinación de COT por un método espectrofotométrico.

Procedimiento:

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 por triplicado (realizando también un blanco). Posteriormente, se adicionaron 5 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0.17 M y 10 mL de H_2SO_4 concentrado, se agitaron por 1 min y se dejó reposar por 30 min en la campana de extracción, posteriormente 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.

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 (Figura 1). De cada una de las soluciones preparadas se tomaron 2 mL, y se siguió el mismo procedimiento descrito para las muestras de suelo.

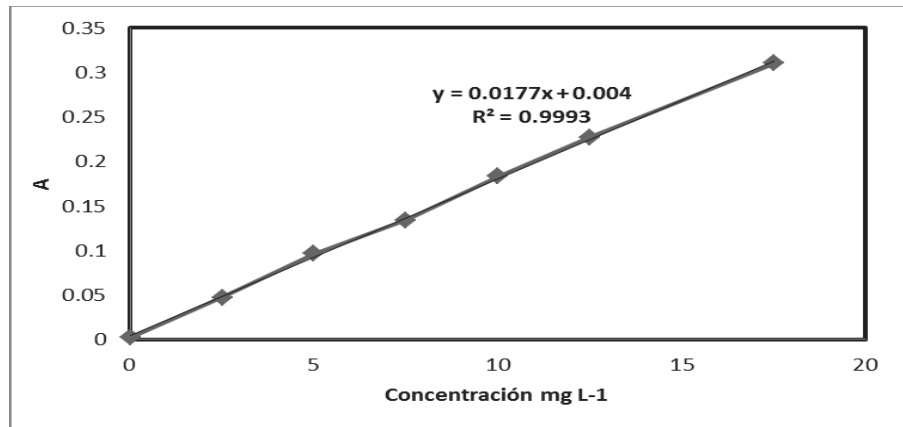


Figura 1. Curva de calibración de COT.

Sé calculó el porcentaje de materia orgánica y nitrógeno a partir del porcentaje de COT [11-12].

$$\text{COT (\%)} = (A_B - A_M) / m * 0.3 * 1.30 \quad (2)$$

$$\text{MO (\%)} = \text{COT} * 1.724 \quad (3)$$

$$\text{N (\%)} = \frac{\text{MO}}{20} \quad (4)$$

Donde:

A_B = Absorbancia del blanco

A_M = Absorbancia de la muestra

m = Pendiente de la ecuación de la curva de calibración

0.3 = Factor

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

1.724 = 100/58 considerando que la MO contiene 58% de CO

• **EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE AHS PROVENIENTES DE SUELO.**

Una muestra de suelo (Atotonilco, Tulancingo o Real del monte) se preparó mediante un proceso de secado (60 °C) y tamizado con una malla de 1.0 mm de tamaño de partícula para la extracción del AH. Se pesaron 15 g y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer con capacidad de 250 mL. Posteriormente, se agregaron 120 mL de una solución recién preparada de $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ e NaOH, (11.15 g de $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ y 1 g de NaOH en 250 mL de solución) a $\text{pH} \approx 13$; el matraz se cerró perfectamente con una septa para evitar la entrada de CO_2 y se mantuvo en agitación durante 30 min después de lo cual, se dejó reposar toda la noche para finalmente filtrar utilizando papel filtro

Whatman No. 42. Al filtrado obtenido se le añadió aproximadamente 1.5 mL de HCl concentrado, se agitó cuidadosamente y se dejó reposar hasta observar la precipitación del AH. La mezcla se filtró a vacío utilizando membranas Millipore de tipo GVHP 0.22 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 [1]. Las muestras obtenidas se reservaron para su posterior caracterización con diferentes técnicas analíticas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

En la determinación de los porcentajes de: **COT** y **MO** descritas anteriormente y obteniendo los resultados tal y como se presentan en las siguientes tablas (Tabla 1 y 2), podemos observar que el mayor porcentaje en ambos parámetros y por los dos métodos utilizados, se obtuvieron del suelo de Atotonilco (**SA**) comparado con el suelo de Tulancingo (**ST**) y Real del Monte (**SRM**). Sin embargo en los resultados obtenidos del **ST** y **SRM** difieren por ambas técnicas (por vía húmeda y espectrofotométrica), sobre todo 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 1. Determinación del %COT, %MO y %N por volumetría.

Muestra	%COT	%MO	%N
Atotonilco	1.26 (3.28)	2.17	0.109
Tulancingo	0.57 (4.79)	0.98	0.049
Real del Monte	0.39 (4.71)	0.67	0.034

(en paréntesis %DSR de diez análisis)

Tabla 2. Determinación del %CO, %MO y %N por espectroscopia.

Muestra	%COT	%MO	%N
Atotonilco	1.69 (2.45)	2.91	0.145
Tulancingo	0.67 (4.68)	1.16	0.058
Real del Monte	0.96 (5.57)	1.66	0.083

(en paréntesis %DSR de seis y nueve análisis)

Los porcentajes de nitrógeno encontrados en las muestras de suelo van relacionados con el %MO y 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 las Tablas 1 y 2, el SA es el que presenta mayores valores por los dos métodos (valoraciones y espectrofotometría), 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 como ya se mencionó, el SA presenta un mayor porcentaje de COT y MO en comparación con las otras dos muestras, no obstante son parámetros de referencia muy importantes para la obtención de AHs sin dejar a un lado diversos factores (clima, biomasa vegetal y animal, grado de humificación, entre otros) que también influyen en la obtención de estos compuestos con gran cantidad y variedad de grupos funcionales, principalmente grupos carboxílicos e hidróxidos fenólicos.

Posteriormente, se llevó a cabo el proceso de extracción de estos ácidos con las tres muestras de suelos, obteniendo un rendimiento de extracción del 4% para el ST y del 7% para el SA. Sin embargo, con el SRM no se logró precipitar al AH, probablemente se deba a la alta concentración de hierro en el suelo ya que durante los experimentos se pudo observar residuos (limadura) en el agitador magnético y el color característico rojizo de la muestra, podría deberse a interacciones del metal con el AH en medio ácido, sin embargo se continuará con la identificación y cuantificación de hierro en la muestra de SRM por espectroscopia de absorción atómica. Por lo cual se permanece con la caracterización de estas tres muestras de suelo para aumentar la calidad y el porcentaje de extracción de las macromoléculas de AH.

4. CONCLUSIONES

El presente trabajo representa un estudio completo de caracterización de tres muestras de suelo con base al %COT, %MO y %N obteniendo resultados muy acertados y reproducibles, y sobre todo se encontró una relación con el *porcentaje de rendimiento de extracción* de los AHs (**SA > ST**), sin embargo hay dos factores importantes en los cuales se continua trabajando, el primero es lograr que no haya diferencias significativas en los dos métodos utilizados (valoraciones y espectrofotometría), y por otro lado continuar con la caracterización de metales interferentes en el proceso de extracción de los AHs.

AGRADECIMIENTO

Silvia Nieto Velázquez agradece el financiamiento **PROMEP** con no. de oficio de liberación: DSA/103.5/14/10566.

BIBLIOGRAFÍA

1. KONONOVA, MM. *Materia Orgánica del Suelo*. 1ra. ed. Barcelona, España: Oikos-tau, 1982. p. 63-105.
2. FLAIG, W. *The chemistry of humic substances, in the use of isotopes in soil organic matter studies*. Report of FAO/IAEA Technical Meeting. New York. 1966. p. 103
3. DAVIES, G., GHABBOUR, EA., STEELINK, C. *Humic acids: Marvelous products of soil chemistry*. Chem Educ, 2001, vol 78, p.1609-1614.
4. SWIFT, R.S. *Organic matter characterization*. (chap 35). In D.L. Sparks et al. (eds) *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5. Soil Sci. Soc. Am.

Madison, WI. 1996, p. 1018-1020. Consultado el 25 de noviembre del 2014 en www.humicsubstances.org/soilhafa.html.

5. STEVENSON, F.J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions*. (2da. Edición). New York: Willey Interscience. 1994.
6. NOVÁK, J., KOZLER, J., JANOS, P., CEZIKOVÁ, J., TOKAROVÁ, V., MADRONOVÁ, L. *Humic acid from coals of the North-Bohemian Coal Filed I. Preparation and characterization*. React. Funct. Polym. 2001, vol 47, p. 101-109.
7. MADRONOVÁ, L., KOZLER, J., CEZIKOVÁ, J., NOVÁK, J., JANOS, P. *Humic acid from coals of the North-Bohemian Coal Filed III. Metal-binding properties of humic acids-measurements in a column arrangement*. React. Funct. Polym. 2001, vol 47, p.119-123.
8. OSTROWSKA, A. POREBSKA, G. *Assessment of the C/N ratio as an indicator of the decomposability of organic matter in forest soils*. Ecological Indicators. 2015, vol. 49, p. 104–109.
9. SMOLANDER, A. LOPONENB, J. SUOMINENA, K. KITUNEN, V. *Organic matter characteristics and C and N transformations in the humus layer under two tree species, Betula pendula and Picea abies*. Soil Biology & Biochemistry. 2005, vol. 37, p. 1309–1318.
10. GARCÍA, G., BALLESTEROS, G.M. *Evaluación de parámetros de calidad para la determinación de carbono orgánico en suelos*. Revista Colombiana de Química. 2005, vol 34, no. 2, p. 201-209.
11. NIETO-VELÁZQUEZ, S. *Estabilidad de los Ácidos Húmicos y su Influencia en la Interacción con Cu(II) y Pb(II)*. (Tesis de Doctorado), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca Hgo; México. (2010).
12. ISLAS-VALDEZ, S. *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 Hgo; México. (2014).