



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Interacción de sustancias húmicas con metales traza contaminantes. Efecto del tratamiento de dichas sustancias sobre la retención de metales.

Tesis presentada para optar al título de Magister en Ciencias Ambientales de la Universidad de Buenos Aires

Lic. Beatriz Irene Grinner

Director de Tesis: Dr. Fernando Molina

Instituto de Química Física de Materiales, Ambiente y Energía (INQUIMAE) y Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física (DQIAQF)

Fecha de presentación del ejemplar: 6 de abril de 2021

Fecha de defensa: 27 de septiembre de 2021

Firma del Director de Tesis

Firma del Maestrando

A mi esposo

A mis hijos

A mi papá

Agradecimientos

A mi esposo y mis hijos, por compartir conmigo este camino y apoyarme siempre en mis proyectos. Por darme alegría, fuerzas para seguir, y sobre todo mucho amor.

Al Profesor Fernando, que confió en mí, me abrió las puertas de un lugar de trabajo lleno de respeto y contención, me asistió de forma teórica y práctica, y me tuvo paciencia infinita.

A mis compañeros del grupo del laboratorio de suelos, especialmente a Matías y Nicolás que me aggiornaron en el uso de las instalaciones, y a Marcos, mi querido compañero de aventuras académicas.

Al grupo de Electroquímica por ser mis camaradas durante el trabajo de escritorio y estar siempre dispuestos a compartir, colaborar y despejar dudas informáticas y de cualquier índole.

A la Universidad de Buenos Aires por mi formación de posgrado.

A todo el DQIAyQF-INQUIMAE, por ser un lugar donde siempre se puede compartir un recurso, una charla, una sonrisa.

Y a todos los que a lo largo de estos años han contribuido de una manera u otra a mi trabajo, dándome palabras de apoyo, despejando dudas, compartiendo saberes

Toda mi gratitud

Resumen

El estado y destino en el suelo de metales traza riesgosos para la salud, como Pb, Cu, etc., está en gran medida afectado por la materia orgánica del suelo. Dentro de ella, las sustancias húmicas son especies macromoleculares de gran interés, que se consideran representativas del total y que por lo tanto han sido extensamente estudiadas. El conocimiento de sus propiedades e interacciones con otras especies, como los metales, tiene entonces gran importancia. En particular, la retención y transporte de contaminantes por ácidos húmicos (AH) y fúlvicos han sido muy estudiadas en las últimas décadas, ya que tales interacciones condicionan en gran medida el destino de dichos contaminantes. Los AH se extraen habitualmente siguiendo el procedimiento adoptado por la International Humic Substances Society (IHSS). Recientemente, sin embargo, se ha señalado que la etapa final de purificación utilizando HCl/HF afecta la capacidad de interacción con metales, lo que plantea la pregunta si no se pueden encontrar mejores vías. Una alternativa mencionada en la literatura es la doble filtración por membranas de polietersulfona (PES), aunque prácticamente no se han informado resultados con esta técnica. En este trabajo se obtuvieron ácidos húmicos de suelos de la Pcia. de Bs. As, uno del área de San Pedro y otro del área de Junín, siguiendo básicamente el procedimiento de la IHSS, consistente en una extracción alcalina y precipitación a pH= 1. Se realizó la purificación por los dos métodos mencionados: i) el procedimiento estándar que consiste en un tratamiento con HCl/HF para eliminar partículas minerales retenidas en la muestra, seguido de diálisis; ii) el tratamiento alternativo basado en una doble filtración por membranas de PES que evita el uso agresivo de ácidos. Los ácidos húmicos así obtenidos se caracterizaron por técnicas estándar y se investigó la interacción con H^+ y Pb(II) a través de titulaciones potenciométricas. Los resultados muestran diferencias significativas entre los productos obtenidos por las distintas vías. En la interacción ácido-base, los AH purificados por PES muestran la menor carga aniónica en todo el rango de pH (mayor afinidad por los H^+), mientras que frente al Pb (II), los mismos AH presentan una menor capacidad de complejación (menor número de sitios). En todos los casos hay diferencias entre el extracto alcalino (sin purificar) y las fracciones purificadas. Aunque resulta necesario un estudio más profundo para esclarecer la metodología de extracción más adecuada, se puede concluir que el método de purificación afecta las propiedades de los AH y por lo tanto a su representatividad respecto de la materia orgánica en el suelo.

Palabras claves: ácidos húmicos, metales traza, extracción.

Abstract

The state and fate of trace metals hazardous to health, such as Pb, Cu, etc., is greatly affected by the soil organic matter (SOM). Humic substances, which are macromolecular species of great interest and considered representative of the whole, constitute an intensively studied fraction. The knowledge of their properties and interactions with other species, such as metals, is of great importance. In particular, the retention and transport of pollutants by fulvic acids and humic acids (AH) have been highly studied in recent decades since such interactions largely determine the fate of these pollutants. AHs are extracted from soil, usually following the procedure adopted by the International Humic Substances Society (IHSS). Recently, however, it has been pointed out that the final stage of purification using HCl / HF affects the ability to interact with metals, which raises the question about if better pathways can be found. An alternative mentioned in the literature is double filtration through polyethersulfone membranes (PES), albeit there are almost no results reported using this technique. In this work humic acids were obtained from soils of the Province of Buenos Aires, one from the San Pedro area and another from Junín area, basically following the IHSS procedure, consisting of an alkaline extraction and precipitation at pH = 1. After that, the purification was performed by the two mentioned methods: i) the standard procedure consisting of a treatment with HCl / HF to remove retained mineral particles in the sample, followed by dialysis; ii) the alternative treatment based on double filtration by PES membranes that avoids the aggressive use of acids. The humic acids thus obtained were characterized by standard techniques and the interaction with H⁺ and Pb (II) was investigated through potentiometric titrations. The results show significant differences between the products obtained by the different routes. In the acid-base interaction, HA purified by PES show the lowest anionic charge in the entire pH range (higher affinity for H⁺), while in the case of interaction with Pb (II), the same HAs have a lower capacity for complexation (lower number of sites). In all cases there are differences between the alkaline extract (without purification) and the purified fractions. Although a deeper study is necessary to clarify the most appropriate extraction methodology, it can be concluded that the purification method affects the properties of HA and therefore its representativeness with respect to the organic matter in the soil.

Keywords: humic acids, trace metals, extraction.

Este trabajo de Tesis ha dado lugar hasta el presente a las siguientes presentaciones:

- **“Contaminación de suelos. Retención y disponibilidad de contaminantes.”**

Gisele V. Ferreyroa, Sergio G. Dabrowski, Federico Dos Reis Copello, Marcos A. Orellana Benítez, Beatriz Grinner, Mariana D. Sosa, Jonathan Gelma, Wanda de Nicola Jaime, Andrea C. Montenegro, Ana Muzlera Klappenbach, Leonardo Lizarraga, María Gabriela Lagorio, Mabel B. Tudino, Raúl S. Lavado, Fernando V. Molina. **2018**. *Primeras Jornadas de AMBIENTE en la FCEN*.

- **“Interacción de materia orgánica natural con metales. Influencia del método de extracción en las propiedades observadas”**

B. I. Grinner y F.V. Molina. *IV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental*. **2019**, Florencio Varela.

Contenido

Agradecimientos	3
Resumen.....	4
Listado de acrónimos y símbolos más usados	10
1. MARCO TEÓRICO	12
1.1. INTRODUCCIÓN	12
1.2. SUELO	13
1.3. SUSTANCIAS HÚMICAS	17
1.3.1. Naturaleza y clasificación de las sustancias húmicas del suelo.....	17
1.3.2. Extracción de sustancias húmicas.....	19
1.3.2.1. Extracción alcalina	20
1.3.3. Caracterización, composición y estructura de las sustancias húmicas.	22
1.3.3.1. Composición elemental	22
1.3.3.2. Distribuciones de peso y tamaño molecular.....	23
1.3.3.3. Espectroscopía IR.....	23
1.3.3.4. Grupos funcionales y propiedades ácido-base.	24
1.3.3.5. La estructura molecular de las sustancias húmicas.	26
1.3.4. Enlace de iones a sustancias húmicas.....	29
1.4. SORCIÓN EN PARTÍCULAS COLOIDALES	32
1.4.1. Conceptos generales	32
1.4.2. Isotermas de sorción	33
1.4.2.1. Clasificación de las isotermas de sorción en solución.....	34
1.4.3. La naturaleza física de la adsorción.	38
1.4.3.1. Adsorción de fase gaseosa.....	38
1.4.3.2. Adsorción desde la solución	39
1.4.4. Teoría de las isotermas de adsorción	41
1.4.4.1. Monocapa ideal: isoterma de Langmuir	41
1.4.4.2. Isotermas de Langmuir competitivas y multisitio	44

1.4.4.3.	Más allá de las isothermas ideales.....	45
1.4.4.4.	Heterogeneidad superficial.....	46
	Las isothermas Langmuir-Freundlich y Freundlich.....	47
1.4.5.	Otras isothermas	49
1.5.	METALES PESADOS	51
1.5.1.	Rol de los metales pesados en el suelo.....	51
	1.5.1.1. Efecto del pH	53
1.5.2.	Contaminación con plomo.....	54
1.5.3.	Remediación de suelos con MO	54
2	EXPERIMENTACIÓN	56
2.1.	SUELO	56
2.1.1	Caracterización de las muestras de suelo.....	56
	2.1.1.1. Determinación de pH.....	57
	2.1.1.2. Difractometría de Rayos X	57
2.1.2.	Materia orgánica del suelo	57
2.2.	OBTENCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS	58
2.2.1.	Introducción	58
2.2.2.	Método tradicional	59
2.2.3.	Filtrado por membrana.....	60
2.2.4.	Complicaciones en las técnicas de filtrado con membranas	61
2.3.	CARACTERIZACIÓN DE AH.....	62
2.3.1.	Análisis elemental	62
2.3.2.	Análisis por difracción de RX.....	62
2.3.3.	Microscopía electrónica de barrido con espectrómetro de energía dispersiva (SEM- EDS).....	62
2.3.4.	Titulaciones de AH con NaOH	63
2.4.	INTERACCIÓN DE AH CON PLOMO	63
2.4.1.	AGNES.....	63

2.4.1.1.	Preparación de película de mercurio	64
2.4.1.2.	<i>Determinación de plomo libre</i>	64
2.4.2.	Titulaciones potenciométricas con plomo	65
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	70
3.1.	SUELO	70
3.1.1	Caracterización de las muestras de suelo	70
3.1.1.1.	<i>pH del suelo</i>	70
3.1.1.2.	<i>Textura</i>	70
3.1.1.3.	<i>Difracción de rayos X</i>	72
3.2.	OBTENCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS	73
3.3.	CARACTERIZACIÓN DE AH	75
3.3.1.	Análisis elemental	75
3.3.2.	Análisis por difracción de RX	76
3.3.3.	Microscopía electrónica de barrido con espectrómetro de energía dispersiva (SEM- EDS)	78
3.3.3.1.	Imágenes brindadas por el SEM	81
3.3.4.	Titulaciones de AH con NaOH	83
3.4.	INTERACCIÓN DE AH CON PLOMO	85
3.4.1.	AGNES	85
3.4.2.	Titulaciones potenciométricas con plomo	85
3.4.3.	Análisis de los resultados:	87
3.5.	CONCLUSIONES:	90
	<i>Referencias bibliográficas</i>	91

Listado de acrónimos y símbolos más usados

AF: ácidos fúlvicos

AH: ácidos húmicos.

BSM: Modelo Básico de Stern (Basic Stern Model)

EDS: Energy Disperse Spectrometer= Espectrómetro de energía dispersiva.

IHSS: Sociedad Internacional de Sustancias húmicas (International Humic Substance Society)

IR: infrarrojo.

ISE: electrodo selectivo de iones.

JA: AH procedente de suelo de Junín, purificado mediante filtrado con membrana.

JB: AH procedente de suelo de Junín, purificado mediante filtrado tradicional.

JX: AH procedente de suelo de Junín, sin purificar.

MO: materia orgánica.

MOD: materia orgánica disuelta.

MON: materia orgánica natural.

MOS: materia orgánica del suelo.

PA: AH procedente de suelo de San Pedro, purificado mediante filtrado con membrana.

PB: AH procedente de suelo de San Pedro, purificado mediante filtrado tradicional.

PX: AH procedente de suelo de San Pedro, sin purificar.

ppm: partes por millón.

rpm: revoluciones por minuto.

RMN: resonancia magnética nuclear.

S: sitio de superficie de sorción.

SEM: Scanning Electron Microscopy= Microscopía electrónica de barrido.

XANES: estructura de absorción de rayos X cerca del borde.

XAS: espectroscopía de absorción de rayos X

Símbolos matemáticos:

a : actividad del adsorbato.

a_A : actividad del componente A.

A_S : área superficial específica.

c_A : concentración del adsorbato.

E: diferencia de potencial.

f_i : cantidad total de componente i adsorbida en superficie.

I: fuerza iónica

k : constante de proporcionalidad.
 K_{adsA} : constante de adsorción del adsorbato A.
 K_d : coeficiente de distribución
 k_{desA} : constante de desorción del adsorbato A.
 K_m : valor medio de la distribución de constantes de adsorción.
 m_s : masa de sorbente.
 n : parámetro de heterogeneidad.
 n_A : número de moles de adsorbato.
 P_A : presión del adsorbato A.
 Q_A : cantidad de adsorbato unido
 Q_H : carga negativa del AH debido a la ionización de H^+ .
 Q_i : cantidad de sitios ocupados por el componente i .
 Q_{Pb} : cantidad de Pb adsorbido.
 $Q_{Pb,max}$: máxima cantidad de Pb adsorbido.
 Q_S : cantidad de sitios totales/ cantidad máxima unida en una sola capa que cubre la superficie.
 R : constante general de los gases.
 R^2 : coeficiente de determinación.
 T : temperatura
 V : volumen
 v_{ads} : velocidad de adsorción.
 v_{des} : velocidad de desorción.
 z_i : carga del ion i .
 α_A : actividad del componente A.
 γ_i : coeficiente de actividad del ion i
 Γ_0 : número de sitios libres en el adsorbente
 Γ_A : concentración superficial del adsorbato.
 Γ_S : sitios totales del sorbente/ cubrimiento de saturación.

 ΔH_{ads} : calor de adsorción.
 ΔG^0_{ads} : energía de adsorción libre estándar de Gibbs.
 λ : longitud de onda.
 Θ_A = grado de cubrimiento por el componente A
 χ : parámetro de interacción de Van Laar.
 ψ_D : potencial Donnan

1. MARCO TEÓRICO

1.1. INTRODUCCIÓN

Se denomina suelo a la parte superficial de la corteza terrestre, biológicamente activa, que proviene de la desintegración o alteración física y química de las rocas y de los residuos de las actividades de seres vivos que se asientan sobre él. Debido a los procesos biológicos y fisicoquímicos que ocurren en los suelos, éstos son de importancia fundamental para los ecosistemas terrestres: mantienen y mejoran la calidad del agua, constituyen un importante reservorio de carbono, son el principal soporte y fuente de nutrientes para los vegetales y albergan una enorme biodiversidad. (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, 2019)

La biomasa, los residuos orgánicos inalterados, las sustancias húmicas y no húmicas constituyen la materia orgánica del suelo (MOS). Esta MO aporta a los suelos propiedades biológicas (reserva de energía metabólica, fuente de macronutrientes, resiliencia del ecosistema, estimulación e inhibición de actividad enzimática y crecimiento de plantas y microbios), físicas (estabilización de la estructura de los suelos, retención de agua, baja solubilidad, variación del color) y químicas (capacidad de intercambio catiónico, capacidad de amortiguación y efectos de pH, quelación de metales, interacción con xenobióticos).

Las sustancias no húmicas son los compuestos orgánicos de estructura definida como azúcares, aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas y polisacáridos que sirven a menudo de sustrato a microorganismos del suelo, son fácilmente degradables y por lo tanto no representan porcentajes permanentes. Las sustancias húmicas son más estables frente a los agentes atmosféricos y constituyen una mezcla no homogénea de macromoléculas. Las sustancias húmicas del suelo (SH) son componentes fundamentales de las aguas naturales y del suelo, constituyen la mayor parte de la materia orgánica del mismo (MOS) y tienen un profundo impacto en sus propiedades, como la capacidad de amortiguación, la capacidad de unión a metales, la estabilidad de los agregados de partículas, la capacidad de retención de agua y la absorción de compuestos orgánicos hidrófobos, la mayoría de los cuales tienen a su vez un gran impacto en la fertilidad del suelo. (Senesi y Loffredo 1998; Baldock y Nelson 1999; Hayes y Malcolm 2001; González-Pérez et al. 2004; Clapp et al. 2005).

En relación con la capacidad de las SH para unirse a metales, es especialmente interesante que la partición en soluciones sólidas y la especiación de los metales traza en ambientes acuáticos y terrestres es una de las llaves para entender su movilidad, destino y biodisponibilidad. De esta manera el impacto que estos elementos tienen en el medio, tanto en su rol de micronutrientes esenciales como así también de sustancias tóxicas, está directamente relacionado con su

interacción con la materia orgánica del suelo. Durante las últimas décadas, se han realizado grandes progresos en el desarrollo de avanzados modelos de especiación para la predicción de enlaces de metales con la mayoría de los más importantes constituyentes adsorbentes en los sistemas naturales, tales como la materia orgánica, óxidos e hidróxidos de aluminio, hierro y manganeso, arcillas y sus ensamblajes. (Orsetti, 2010; Botero, 2018)

El objeto de estudio de esta tesis son los ácidos húmicos que forman parte del suelo. El estudio de técnicas alternativas de extracción, como extracciones físicas en lugar de extracciones químicas, puede ayudarnos a comprender los cambios que la MO experimenta desde la matriz del suelo hasta la solución. Uno de estos métodos alternativos es el reemplazo del tratamiento de purificación con ácidos inorgánicos fuertemente reactivos mediante un paso de filtración para la eliminación de las fracciones minerales. Este problema es interesante en sí mismo y más aún porque diversos autores (Lehman y Kleber, 2015) cuestionaron la realidad de lo que se llama húmicos en los suelos y sugirieron la adopción de un modelo de suelo continuo, afirmando que la extracción alcalina no es representativa de la MO del suelo. En la actualidad existe un amplio debate en la comunidad científica acerca de la representatividad de las SH obtenidas por el método tradicional de extracción alcalina y purificación con ácido fluorhídrico y clorhídrico - HF/HCl- (Myneni, S.C.B., 2019) con opiniones a favor (Olk, D.C., Bloom, P.R., Perdue, E.M., McKnight, D.M., Chen, y, Farenhorst, A., Senesi, N., Chin, Y.-P., Schmitt-Kopplin, P., Hertkorn, N., Harir, M., 2019; Wells, M.J.M., 2019) y en contra (Kleber, M., Lehmann, J., 2019). Surge entonces la pregunta acerca de si modificando la metodología de purificación se puede mejorar la representatividad de las SH obtenidas, lo que se aborda en este trabajo. Dada la clara necesidad de investigación sobre la naturaleza de las diferencias en la reactividad entre la MO natural purificada frente a la menos perturbada, este estudio contribuirá a mejorar el modelado de la unión del metal a la MO en los suelos y otros medios, y en definitiva a una mejor evaluación de riesgos ambientales, ya que proporciona una base para una evaluación más realista del riesgo. (Botero, 2018)

1.2. SUELO

Es uno de los recursos más importantes que existen y uno de los retos futuros de la humanidad ha de ser la lucha contra su degradación. El suelo es un sistema natural, organizado e

independiente, cuya formación se debe a la acción conjunta del clima, los organismos, la vegetación, el relieve y el tiempo sobre la roca madre. Constituye una matriz de componentes orgánicos y minerales que engloba una red porosa por donde circulan líquidos y gases y que alberga numerosas poblaciones de organismos vivos, en una situación de equilibrio dinámico. A pesar de que, en principio, el suelo es un recurso natural renovable, su génesis es un proceso muy lento, por lo que debe ser tratado como un recurso no renovable (Agencia Europea de Medio Ambiente, 2004).

Elemento fundamental para la vida, el suelo constituye la base para la alimentación, la producción de materias primas, los servicios ecosistémicos y el bienestar humano. Es el reservorio de al menos un cuarto de la biodiversidad global. El suelo juega un rol clave en la provisión del agua limpia y resiliencia frente a inundaciones y sequías. El mayor almacenamiento de carbono terrestre está en el suelo por lo tanto su preservación puede contribuir a la adaptación y mitigación del cambio climático. El mantenimiento global del suelo es esencial para hacer frente a las necesidades humanas de comida, agua y seguridad energética. (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable).

La formación de los suelos depende de un largo y complejo proceso de descomposición de las rocas, en el cual intervienen factores físicos, químicos y biológicos. La interacción de éstos, como factores ecológicos, provoca la desintegración de los minerales que, unidos a los restos de animales y plantas en forma de materia orgánica, originan el suelo.

La mayoría de los suelos de Argentina son formados por cenizas volcánicas. Este material, llamado loess se va depositando en capas. El suelo en general, y este tipo en particular, está en constante evolución y sujeto a cambios permanentes.

El suelo se encuentra compuesto por diferentes proporciones (según su origen) de materia inorgánica y orgánica. La porción inorgánica se denomina genéricamente "mineral", la parte orgánica es más difícil de tipificar, mucho más compleja y variable.

Los componentes inorgánicos del suelo son minerales primarios que provienen de volcanes, como el basalto, que es una roca ígnea volcánica de color oscuro, de composición máfica, es decir, rica en silicatos de magnesio y hierro y en sílice (cuarzo), que constituye uno de los minerales más abundantes en la corteza terrestre. Otros minerales primarios abundantes son las micas y los feldespatos. También se encuentran en el suelo minerales secundarios, producidos por la transformación de las rocas por meteorización, como las arcillas y los óxidos, de composiciones variables.

El término “materia orgánica del suelo” (MOS) hace referencia a todas las sustancias presentes en el mismo que contienen carbono orgánico. En los suelos se almacenan más de $1,5 \cdot 10^{15}$ kg de carbono en forma orgánica, además de unos $0,9 \cdot 10^{15}$ kg de carbono inorgánico. Aunque el contenido de materia orgánica de los suelos es muy variable en función de sus características y de las condiciones climáticas y de manejo, en total engloba cuatro veces el carbono contenido en los seres vivos y tres veces el presente en la atmósfera (Lal, 2004).

Es muy importante la MOS o humus como constituyente del suelo ya que es responsable de muchos procesos fisicoquímicos y biológicos. Se forma a partir de la descomposición de restos de plantas y animales mediante procesos biogeoquímicos en los que participan los agentes atmosféricos y microorganismos que en un proceso llamado humificación generan sustancias orgánicas productos de degradación. (Venegas Sepúlveda, 2015)

Entre las funciones biológicas de la MOS destacamos que proporciona la energía metabólica que impulsa los procesos biológicos del suelo. La mineralización de la MOS puede influir significativamente (en forma positiva o negativa) en el tamaño de las reservas de macronutrientes disponibles para las plantas. La acumulación de importantes reservas de MO y nutrientes asociados puede mejorar la capacidad de recuperación de un ecosistema después de perturbaciones naturales o antropogénicas impuestas. La actividad de las enzimas que se encuentran en los suelos y el crecimiento de las plantas y microorganismos pueden ser estimulados o inhibidos por la presencia de materiales húmicos en el suelo.

Como funciones físicas destacamos que, mediante la formación de enlaces con las partículas minerales del suelo, la MO es capaz de unir partículas individuales en agregados estables en agua a escalas que van desde 2 micrómetros hasta milímetros para raíces de plantas e hifas fúngicas. La MO puede afectar directamente a la retención del agua a causa de su habilidad para absorber más de 20 veces su masa de agua e indirectamente a través de su impacto en la estructura del suelo y la geometría de los poros. Asegura que la mayor parte de los materiales orgánicos agregados al suelo se retienen y no se pierden del perfil del suelo. El color oscuro que la MO imparte al suelo puede alterar sus propiedades térmicas.

Entre las funciones químicas señalamos que las altas cargas iónicas características de la MOS mejoran la retención de cationes (por ejemplo, micronutrientes como Al^{3+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ , y los metales de transición como Cu y Zn). En suelos ligeramente ácidos a alcalinos, la MO puede actuar como buffer y ayuda en el mantenimiento de condiciones de pH aceptables. Complejos estables formados con metales y elementos traza mejoran la disolución de los minerales del suelo, reduce la pérdida de micronutrientes del suelo, reduce la toxicidad potencial de los metales, y mejora la disponibilidad de fósforo. La MO puede alterar la biodegradabilidad, actividad y persistencia de los pesticidas en los suelos.

Las principales funciones de la materia orgánica del suelo señaladas por Lal (2004) se enumeran en la tabla 1.1.

Tabla 1.1. Funciones de la materia orgánica del suelo

FUNCIONES DIRECTAS

- Actúa como reserva de los principales nutrientes para las plantas.
- Participa en reacciones de intercambio iónico
- Absorbe agua a bajos potenciales hídricos, aumentando el agua útil para las plantas.
- Mejora la agregación del suelo, disminuyendo la susceptibilidad a la erosión.
- Aumenta la capacidad de infiltración de agua y reduce las pérdidas debido a escorrentía superficial.
- Es la fuente de energía para la biota del suelo, contribuyendo al aumento de la biodiversidad.

- Mejora la eficiencia en el empleo de agua y nutrientes, ya que disminuyen las pérdidas por drenaje, evaporación y volatilización.
- Contribuye a la capacidad amortiguadora del pH.
- Modera la temperatura del suelo.

FUNCIONES INDIRECTAS

- Se reduce la carga de sedimentos en cursos de agua.
- Filtra la carga contaminante de compuestos orgánicos.
- Participa en la biodegradación de contaminantes.
- Amortigua las emisiones de gases de efecto invernadero del suelo.

Fuente: Lal (2004).

La materia orgánica de un ecosistema maduro presenta un estado en evolución permanente, que tiende a alcanzar un equilibrio dinámico cuando las entradas de carbono al suelo por los aportes de los residuos vegetales y animales son iguales a las salidas debidas a los procesos de mineralización y lixiviación de sus fracciones solubles (Schulze y Freibauer, 2005).

La materia orgánica del suelo se puede dividir en dos grupos, en función de su estructura química: las sustancias no húmicas, que incluyen los compuestos orgánicos pertenecientes a

las clases químicamente conocidas (aminoácidos, carbohidratos, lípidos, etc.) y que no se encuentran únicamente en los suelos; y sustancias húmicas, que constituyen la fracción cuantitativamente más importante y que está constituida por una mezcla químicamente heterogénea de compuestos, por lo que no puede ser descrita mediante una estructura molecular única definida químicamente; se trata de sustancias relativamente resistentes a la degradación biológica, generadas mediante el proceso de humificación, en el que los restos orgánicos procedentes de seres vivos se descomponen y transforman, teniendo lugar un proceso de reorganización estructural o supramolecular secundario que origina las sustancias húmicas (Stevenson, 1994; Senesi y Loffredo, 1999; Clapp et al 2005).

1.3. SUSTANCIAS HÚMICAS

1.3.1. Naturaleza y clasificación de las sustancias húmicas del suelo.

Las *sustancias húmicas (SH)* comprenden una mezcla heterogénea de macromoléculas que son relativamente resistentes a la degradación y al ataque químico. Son ubicuas en el medio natural, encontrándose tanto en medioambientes terrestres como acuáticos, tal es así que representan el 60-70% de la materia orgánica del suelo y el 30-50% de la materia orgánica del agua superficial. Son componentes muy importantes del suelo, afectando sus propiedades físicas y químicas y aumentando la fertilidad de este. En sistemas acuáticos, como ríos, alrededor del 50% de los materiales orgánicos disueltos son SH que afectan el pH y alcalinidad. En sistemas terrestres y acuáticos las SH afectan la química, los ciclos y la biodisponibilidad de elementos químicos, como también el transporte y degradación de xenobióticos y compuestos orgánicos naturales, comportándose como un mecanismo de autodepuración. Además, su alto contenido de grupos ácidos (carboxílicos y fenólicos, principalmente) le otorgan propiedades reguladoras del pH. (Orsetti, 2010)

Son una mezcla compleja y altamente heterogénea (en sentido químico y físico) de compuestos orgánicos, muchos de naturaleza coloidal y/ o polielectrolítica, que tienen un peso molecular medio a alto, color amarillo a negro y una composición mixta alifática/ aromática. Estas sustancias son distintivas de los sistemas del suelo, ya que son el resultado de procesos de degradación de organismos muertos (principalmente vegetales, pero también incluyen animales) como resultado de la actividad microbiana, posiblemente seguida por reacciones de síntesis/condensación secundarias, o bien asociaciones supramoleculares, en lo que se denomina proceso de humificación (Clapp et al., 2005). La lignina vegetal y sus productos de transformación, como

también polisacáridos, melanina, cutina, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, partículas finas de carbón, etc., son componentes importantes que participan en este proceso. En la actualidad, los mecanismos propuestos para el proceso de humificación son varios. Dado que la degradación de los precursores orgánicos lleva un prolongado lapso y en el proceso los productos se exponen al agua, oxígeno y radiación solar, las sustancias húmicas se consideran moléculas “viejas”, que se encuentran al final de las rutas de biodegradación y de oxidación, y no sufren sucesivas rupturas salvo que sean expuestas a agentes químicos específicos nuevos. Por otro lado, la composición elemental de las SH suele estar en el siguiente rango: C, 45-55%; H, 3- 6%; N, 1-5%; O, 30-45%; S, 0-1%. (Orsetti, 2010). Es interesante observar que, incluso cuando su composición depende de la ubicación (debido a la vegetación, la fauna y el clima locales), sus propiedades son similares en todas partes.

Esquemáticamente la clasificación del humus (materia orgánica del suelo, MOS) según su extracción se puede representar como se muestra en la siguiente figura:

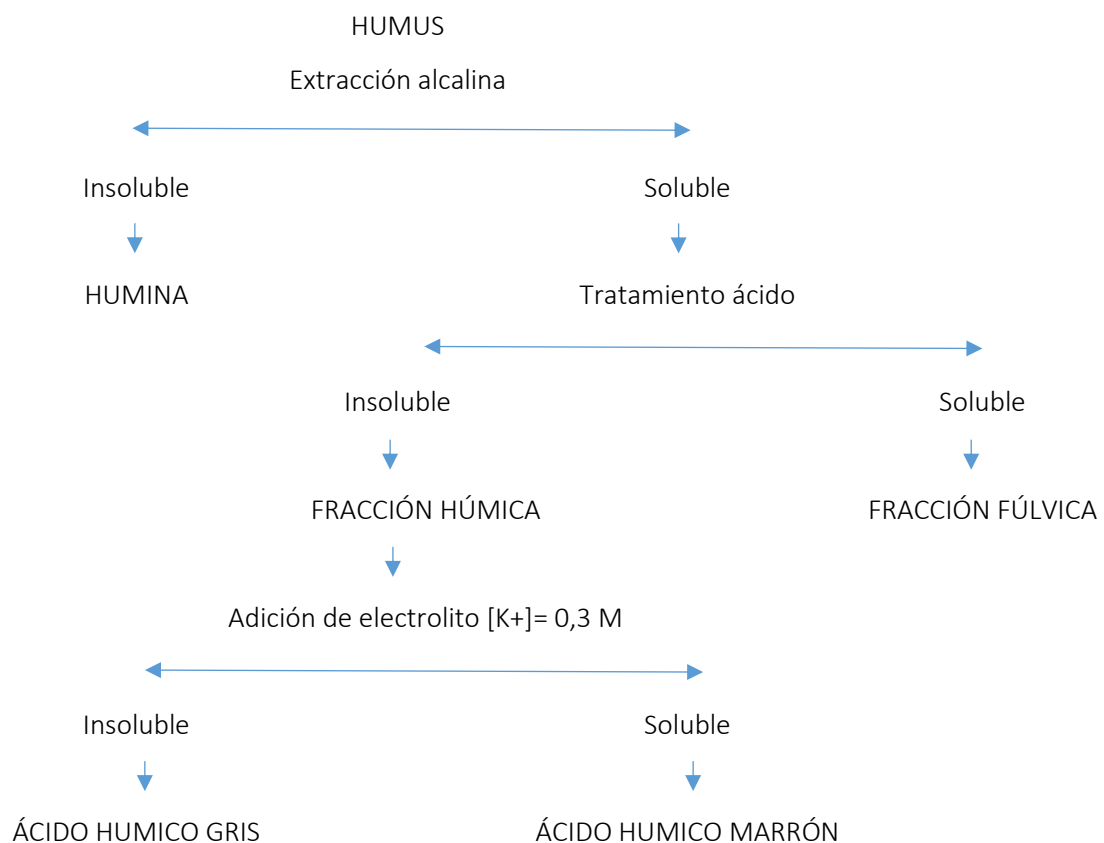


Figura 1.1: Esquema clásico para el fraccionamiento de SH (Sparks 2003)

La Figura 1.1 resume el esquema de separación conceptual correspondiente a esa clasificación, que incluye una distinción adicional entre los ácidos húmicos gris y marrón, siendo esta última

estable en medios electrolíticos, porque es más polar. Es importante enfatizar que la clasificación es puramente operacional, no está relacionada con la composición, estructura o propiedades de la SH; por supuesto, resulta en diferentes composiciones y propiedades de cada grupo.

Se clasifican generalmente en fracciones en términos de solubilidad:

1. Ácidos fúlvicos (AF): la fracción que es soluble en agua a cualquier valor de pH.
2. Ácidos húmicos (AH): la fracción que es soluble a $\text{pH} \geq 2$
3. Humina: la fracción insoluble en agua a cualquier pH.

Las SH pueden retener cationes metálicos mediante diferentes mecanismos como la complejación de esfera interna, precipitación e intercambio catiónico (Stevenson, 1994). En los horizontes superficiales son el principal contribuyente a la capacidad de intercambio catiónico de los suelos ya que poseen una carga negativa elevada y variable, dependiente del pH. La carga variable de las SH es producto de la protonación o desprotonación de los grupos funcionales presentes en su estructura, lo cual les confiere la capacidad de inmovilizar los metales pesados, incluso en suelos que presentan una baja concentración de SH (Sparks 2003, Venegas Sepúlveda, 2015).

Las SH no están aisladas en los suelos, a menudo se asocian con coloides minerales, pequeños iones y otros compuestos orgánicos, por eso es necesario un procedimiento de separación para aislar sustancias húmicas para su estudio.

1.3.2. Extracción de sustancias húmicas.

El aislamiento de sustancias húmicas es un problema difícil que ha desafiado a los investigadores durante muchos años. El método de extracción ideal debe cumplir los siguientes objetivos (Stevenson 1994):

1. El método conduce al aislamiento de material inalterado
2. Las sustancias húmicas extraídas están libres de contaminantes inorgánicos, como arcilla y cationes polivalentes.

3. La extracción es completa, asegurando así la representación de las fracciones de todo el rango de peso molecular, y

4. El método es universalmente aplicable a todos los suelos.

En la actualidad, ningún método cumple con todos estos requisitos. Además, no hay un límite claro entre lo que se considera "verdadera" SH y lo que cae en la categoría de "impurezas" orgánicas. Se ha empleado una variedad de técnicas, dependiendo de la naturaleza del material a examinar o los propósitos del experimento (Stevenson 1994; Senesi y Loffredo 1998; Hayes y Malcolm 2001). Usualmente, los solventes acuosos se usan para el aislamiento de SH de los suelos. Pero algunos solventes orgánicos pueden tener aplicaciones; por lo tanto, los compuestos no polares como grasas, ceras, resinas, etc. se pueden extraer con disolventes orgánicos tales como hexano, éter, mezclas de alcohol-benceno y otros. Sin embargo, Hayes (Hayes 1985) concluyó que los "buenos" disolventes orgánicos tienen valores relativamente altos de constante dieléctrica y permitividad magnética, y son capaces de aceptar el enlace de H. La dimetilformamida (DMF) y el dimetilsulfóxido (DMSO) cumplen estos requisitos, pero se presentan problemas para la recuperación de fracciones convencionales de SH de estos solventes. Los procedimientos de hidrólisis se han utilizado para aislar monómeros individuales, tales como aminoácidos y azúcares. La definición de SH dada en la sección anterior, sin embargo, implica una extracción alcalina.

1.3.2.1. Extracción alcalina

El método más utilizado es la extracción alcalina con NaOH, que ha sido propuesta y respaldada por la International Humic Substances Society (IHSS) (Swift 1996; Hayes y Malcolm 2001). La solución de NaOH 0,1 a 0,5 M en agua y una relación de suelo a extractor de 1: 2 a 1: 5 (g: ml) se han utilizado ampliamente para recuperar materia orgánica y se resume en la figura 1.2. La lixiviación del suelo con HCl diluido, que elimina el Ca y otros cationes polivalentes, aumenta la eficiencia de extracción de MO con reactivos alcalinos. El procedimiento original empleó posteriormente un tratamiento con 0,1 M HCl/ 0,3 M HF para eliminar los coloides inorgánicos del suelo finamente divididos, proporcionando así materiales con un contenido de ceniza razonablemente bajo (Swift 1996). El tratamiento con HCl/ HF se repite para tener un contenido de ceniza <1%, seguido de diálisis; estas operaciones conducen a pérdidas considerables de las fracciones húmicas. Clapp y Hayes (Clapp y Hayes 1999) encontraron que la filtración a través de filtros de 0,45 o 0,22 μ m obstruidos parcialmente reduce muy efectivamente el contenido de

cenizas de las fracciones de SH y, por supuesto, este procedimiento evita la degradación de los materiales húmicos.

Algunos inconvenientes de la extracción con álcali son:

1. Las soluciones alcalinas disuelven la sílice de la materia mineral y esta sílice contamina las fracciones orgánicas separadas del extracto.
2. Las soluciones alcalinas disuelven los componentes protoplásmicos y estructurales de los tejidos orgánicos frescos y estos se mezclan con la materia orgánica humificada.
3. En condiciones alcalinas, la oxidación de algunos constituyentes orgánicos ocurre en contacto con el aire tanto durante la extracción como cuando los extractos se dejan reposar.
4. Otros cambios químicos pueden ocurrir en la solución alcalina, como la condensación entre aminoácidos y aldehídos o quinonas. Cuanto más alcalina sea la solución y más largo sea el período de extracción, mayores serán los cambios químicos.

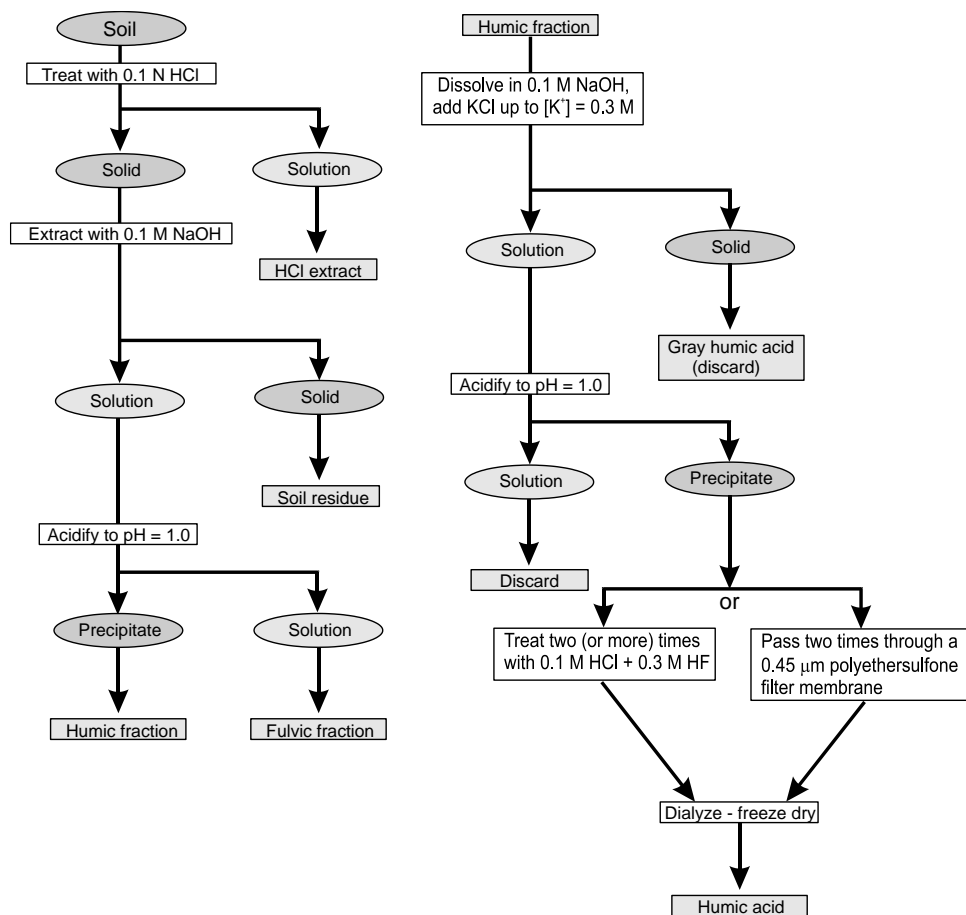


Figura 1.2. Procedimiento de separación y fraccionamiento según IHSS (Swift 1996) con algunas modificaciones de Hayes y colaboradores (Clapp y Hayes 1999; Hayes y Malcolm 2001).

La oxidación se puede prevenir trabajando en una atmósfera de gas inerte, generalmente N₂. Otras reacciones pueden reducirse hasta cierto punto al minimizar el tiempo en que el SH está en medio alcalino fuerte.

1.3.3. Caracterización, composición y estructura de las sustancias húmicas.

1.3.3.1. Composición elemental

Las sustancias húmicas, como casi toda la materia orgánica, están compuestas de C, H, O y N; a veces se encuentran S y otros elementos. El análisis elemental debe ser el primer paso de caracterización en el análisis de SH. Normalmente se realiza mediante el método clásico de combustión completa seguido de cromatografía de gases de los productos resultantes. La tabla 1.2 muestra los valores encontrados para los ácidos húmicos de diferentes suelos. Se observa que, además de C, O es el más importante, mientras que los contenidos de N son relativamente bajos. Además, la relación atómica de O/C es baja para los ácidos húmicos, lo que concuerda con su menor solubilidad, especialmente en medios ácidos; esta relación es de alrededor de 0,5 para AH. La relación H/ C es de alrededor de 1,00 para AH del suelo (Tabla 1.2). Como las SH son en realidad mezclas de diferentes sustancias, no se puede dar una fórmula molecular significativa. En esta tabla 1.2 se observa que se encuentra una clara dependencia del clima para la composición elemental de los ácidos húmicos.

Tabla 1.2 Composición elemental (% de masa) de ácidos húmicos de diferentes suelos ^a

Ácidos húmicos							
Elemento	Suelo				Rango	Promedio	Relación atómica X/C
	Ártico	Ácido frío	Subtropical	Tropical			
C	56,2	53,8-58,7	53,6-55,0	54,4-54,9	53,6-58,7	56,2	1,00
H	6,2	3,2-5,8	4,4-5,0	4,8-5,6	3,2-6,2	4,7	1,00
N	4,3	0,8-2,4	3,3-4,6	4,1-5,5	0,8-4,3	3,2	0,05
S	0,5	0,1-0,5	0,8-1,5	0,6-0,8	0,1-1,5	0,8	0,005
O	32,8	35,4-38,3	34,8-36,3	34,1-35,2	32,8-38,3	35,5	0,47

^aDatos de Senesi y Loffredo (Senesi and Loffredo 1998)

1.3.3.2. Distribuciones de peso y tamaño molecular

Existen varias técnicas disponibles para estudiar el peso molecular y el tamaño de las SH. Debe recordarse que las SH son en realidad una mezcla de moléculas de diferente tamaño, forma y composición elemental, por lo que muestran polidispersidad (una distribución amplia de tamaños y pesos moleculares) y son polielectrolíticos (es decir, están cargados con varias cargas elementales por molécula).

1.3.3.3. Espectroscopía IR

La espectroscopia infrarroja (IR) ha sido, desde hace mucho tiempo, una herramienta clave en el análisis estructural de moléculas orgánicas (Bellamy 1975; Johnston y Aochi 1996). Sin embargo, para moléculas complejas como SH, la interpretación de los espectros de IR se vuelve difícil porque hay mucha superposición de bandas. A pesar de esto, se puede extraer información útil de los espectros IR; la mayoría de las investigaciones se han realizado utilizando un rango de IR medio, pero la región de IR cercana también se ha empleado recientemente (Reeves III 2010; Bellon-Maurel y McBratney 2011).

El espectro IR permite identificar algunos grupos funcionales característicos a través de sus vibraciones que aparecen en regiones espectrales definidas (ver Figura 2.3): en números de onda más altos, aparecen las vibraciones de energía más altas, que son estiramientos de enlaces XH (X siendo C, O y N, principalmente); estos aparecen alrededor de 2900 cm^{-1} para las vibraciones de estiramiento C-H y entre 3000 y 3500 cm^{-1} para las vibraciones O-H y N-H, que se amplían en presencia de la unión de H. En la región alrededor de 1700 cm^{-1} de C = O se observan vibraciones correspondientes a grupos de ácido carboxílico, mientras que otros grupos carbonilo aparecen más cerca de 1600 cm^{-1} , y el grupo carboxilato (COO^-) tiene una banda característica cerca de 1350 cm^{-1} . Los anillos aromáticos muestran usualmente dos bandas alrededor de 1500 - 1400 cm^{-1} . A 1264 cm^{-1} se observan deformaciones C-O y O-H (es decir, vibraciones laterales). Se pueden encontrar descripciones más detalladas en la literatura (Bellamy 1975; Pretsch, Bühlmann y Badertscher 2009). En la Figura 1.3 se muestran los espectros IR a diferentes valores de pH de un ácido húmico gris derivado de una muestra comercial, donde se observan las bandas mencionadas anteriormente. La característica principal aquí es la marcada disminución de la banda de carboxilato de 1712 cm^{-1} debido a la ionización (Alvarez-Puebla y Garrido 2005).

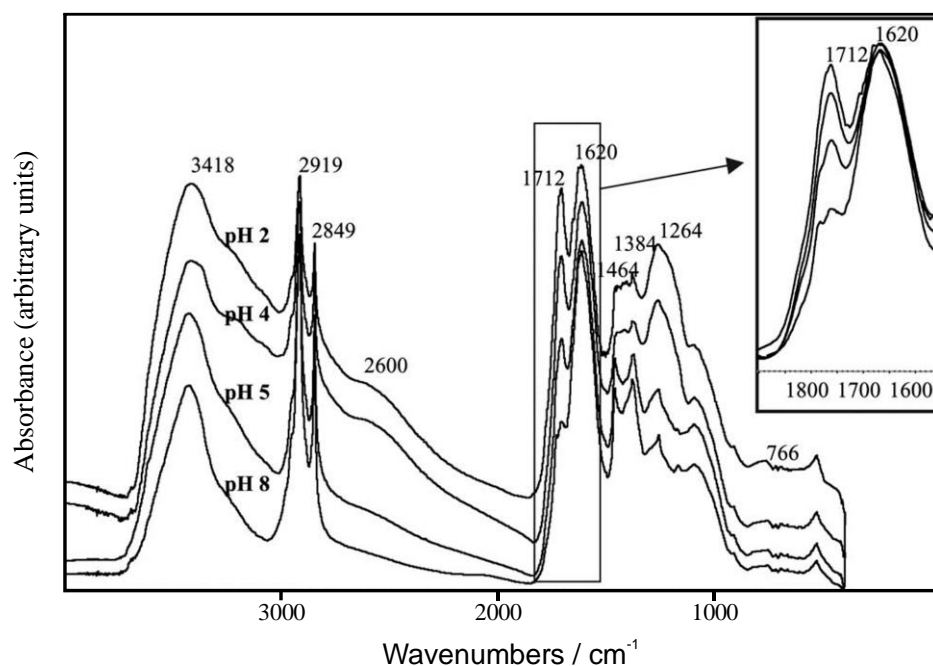


Figura 1.3 Espectros IR de un ácido húmico a diferentes valores de pH. Recuadro, detalle de la región de la banda carboxílica. Reimpreso de Alvarez-Puebla y Garrido 2005.

1.3.3.4. Grupos funcionales y propiedades ácido-base.

Análisis grupal funcional

El análisis de los grupos funcionales en SH se lleva a cabo mediante los métodos estándar de química orgánica de la siguiente manera (Swift 1996). La acidez total generalmente se encuentra mediante la titulación de la SH (llevada a la forma H^+ mediante el uso de una resina de intercambio catiónico) hasta $pH = 7,0$ (que es un punto final arbitrario). Alternativamente, la SH se trata con un exceso conocido de $Ba(OH)_2$, el precipitado se filtra y la base restante se titula con HCl a $pH = 8,4$. La cantidad de grupos carboxílicos se encuentra mediante el tratamiento con acetato de calcio y la valoración de los protones liberados con NaOH. La diferencia entre la acidez total y los contenidos carboxílicos se considera el contenido fenólico (grupos ácidos más débiles). Por otro lado, los grupos OH totales se determinan por acetilación e hidrólisis posterior a ácido acético que se titula con una base estándar. La diferencia entre el OH total y el OH fenólico, es la cantidad de grupos alcohólicos. Finalmente, los grupos carbonilo se miden por reacción con un exceso de hidroxilamina seguido de valoración de la hidroxilamina sin reaccionar. Los grupos quinoideos se determinan mediante reducción con un exceso de Fe (II) y valoración amperométrica del reductor restante. Los grupos cetónicos se encuentran como diferencia entre el $C = O$ total y los quinoideos. La tabla 1.3 presenta los resultados para los ácidos húmicos de diferentes climas.

Cabe señalar que, debido a dificultades en la cuantificación precisa, estos resultados deben tomarse con precaución (Senesi y Loffredo 1998). Se encuentra que los contenidos de carbonilo varían ampliamente entre diferentes muestras.

Tabla 1.3 Composición principal de grupos funcionales (mol kg⁻¹) de ácidos húmicos de diferentes suelos^a

Ácidos Húmicos						
Grupo Funcional	Suelo					
	Ártico	Ácido frío	Subtropical	Tropical	Rango	Promedio
Acidez total	5,6	5,7-8,9	6,3-7,7	6,2-7,5	5,6-8,9	6,7
Carboxilato	3,2	1,5-5,7	4,2-5,2	3,8-4,5	1,5-5,7	3,6
Fenólico OH	2,4	3,2-5,7	2,1-2,5	2,2-3,0	2,1-5,7	3,9
Alcohólico OH	4,9	2,7-3,5	2,9	0,2-1,6	0,2-4,9	2,6
Carbonilo Quinódico	2,3	0,1-1,8	0,8-1,5	1,4-2,6	0,1-5,6	2,9
Carbonilo Ketónico	1,7			0,3-1,4		

^aDatos de Senesi y Loffredo (Senesi and Loffredo 1998)

El comportamiento ácido-base de la SH es complicado debido a su composición compleja. La Figura 1.4 muestra las curvas de titulación ácido-base típicas de 14 muestras de la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS) (Ritchie y Perdue 2003). Estas curvas se obtuvieron titulando una masa conocida de SH, en electrolito de soporte de NaCl 0,1 M, con NaOH estándar, teniendo cuidado de evitar problemas tales como la oxidación de SH en medio alcalino. Las curvas se representan como el valor absoluto de la carga húmica negativa Q_H , que se encuentra a través del balance de carga:

$$Q_H = [Na^+] + [H^+] - [Cl^-] - [OH^-] \quad (1.1)$$

La forma de las curvas no se parece a las curvas comunes de titulación de ácido débil; esto se debe a la gran cantidad de diferentes grupos ácidos, principalmente carboxílicos y fenólicos, con constantes de disociación diferentes.

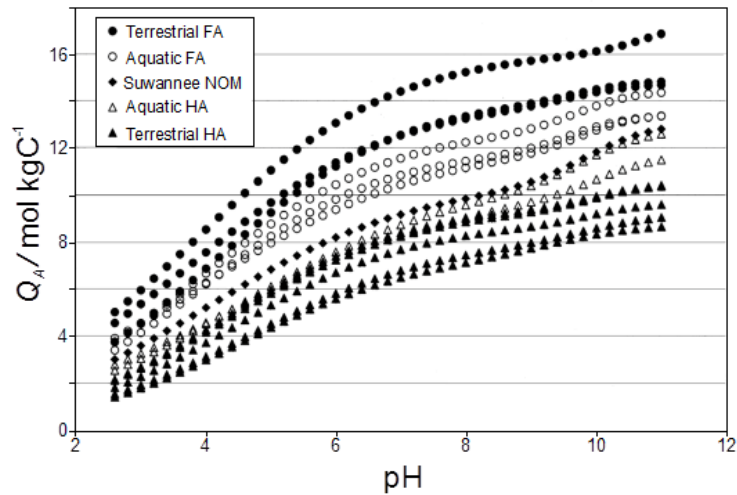


Figura 1.4 Curvas de titulación ácido-base de 14 sustancias húmicas, forman estándares IHSS: las muestras de AF terrestres son de suelo Elliot estándar, turba Pahokee estándar y turba Pahokee de referencia; los AF acuáticos incluyen el río Suwannee estándar, el río Suwannee de referencia y el lago nórdico de referencia; MON es del río Suwannee; los AH acuáticos son del río Suwannee estándar y el lago nórdico de referencia; y AH terrestre incluyen suelo Elliot estándar, turba Pahokee estándar, Leonardita estándar, turba Pahokee de referencia y suelo Summit Hill de referencia. (Ritchie y Perdue 2003)

1.3.3.5. La estructura molecular de las sustancias húmicas.

La determinación de estructuras moleculares de sustancias húmicas es un problema que ha interesado a muchos investigadores durante largo tiempo (Hayes et al. 1990; Stevenson 1994; Hayes y Malcolm 2001; Simpson et al. 2001a; Simpson et al. 2002; Wershaw 2004; Sutton y Sposito 2005; Baigorri et al. 2009). El tema es complejo porque los ácidos húmicos y fúlvicos son realmente fracciones definidas por sus propiedades de solubilidad, lo que potencialmente abarca una gran cantidad de compuestos orgánicos. Además, algunos investigadores intentaron buscar una estructura química general común para SH, lo cual no es el caso como lo han revelado las técnicas analíticas modernas, pero, sin embargo, debería haber parecido poco probable de antemano

Un hecho importante en el comportamiento de SH es su capacidad de agregarse y desagregarse en solución, lo cual ha sido observado por varios autores (Tombacz y Meleg 1990; Engebretson y von Wandruszka 1998; Maurice y Namjesnik-Dejanovic 1999; Manning, Bennett y Milton 2000; Pranzas et al. 2003). En particular, se sabe que para disolver un ácido húmico en un medio relativamente ácido (pH aproximadamente 4,0-5,0), la mejor manera es disolverlo primero en

álcali y luego bajar el pH al valor deseado; a pH alto, el AH está altamente cargado, lo que favorece la desagregación por repulsión entre las moléculas. Después de este proceso, los estudios de microscopía atómica de fuerza (AFM) revelan un tamaño molecular relativamente pequeño (aproximadamente 2-4 nm) (Balnois et al. 1999; Plaschke et al. 1999), ver Figura 1.5. La pirólisis analítica, a su vez, ha revelado una serie de fragmentos diferentes, incluidos aromáticos y alifáticos, carbohidratos, polipéptidos, etc. Por otro lado, estudios detallados de resonancia magnética nuclear en 2-D (RMN 2-D) realizados por Simpson et al (Simpson et al. 2002) han revelado presencia de fragmentos moleculares de origen diverso (alifáticos, aromáticos, polipéptidos, polisacáridos, etc.), y propuso que las SH en el suelo son esencialmente agregados de fragmentos de diferente naturaleza química, unidos por una combinación de enlaces H, complejación catiónica y Fuerzas de Van der Waals. La figura 1.6 muestra esa vista, comparándola con la concepción del polímero de forma pictórica, mientras que la figura 1.7 muestra una ilustración molecular del concepto. Esta idea de la composición y el estado de las SH en los suelos es consistente con toda la información experimental disponible actualmente.

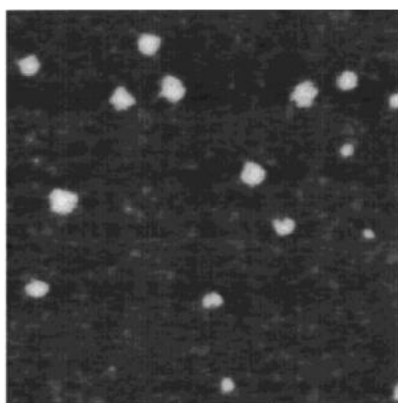


Figura 1.5

Figura 1.5 Imagen típica de microscopía de fuerza atómica en modo Tapping (TM-AFM) de macromoléculas de ácido húmico del río Suwannee aisladas, adsorbidas en mica. El tamaño de escaneo es 600 nm x 600 nm. (Balnois et al. 1999).

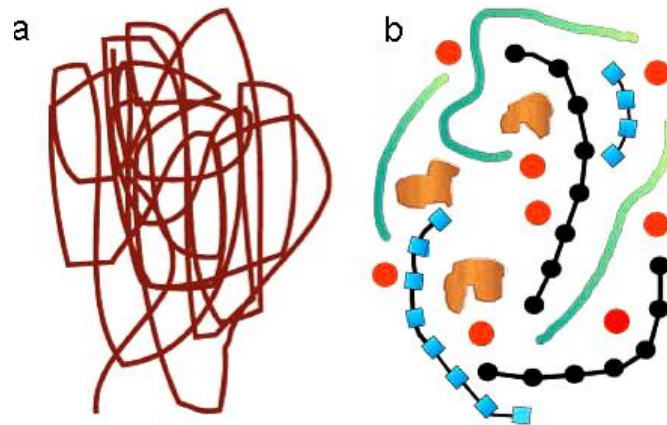


Figura 1.6 Representación pictórica de: (a) el concepto tradicional de sustancias húmicas (SH) como macromoléculas en espiral al azar; (b) el nuevo concepto es que los componentes principales que se encuentran en las sustancias húmicas alcalinas extraíbles del suelo son de hecho de peso molecular relativamente bajo (<2000 Da) y se asocian para formar agregados supramoleculares. Los símbolos representan: los círculos aislados cationes metálicos genéricos, las unidades de cadena cuadrada polipéptidos, los círculos encadenados polisacáridos, las líneas gruesas cadenas alifáticas y los bloques irregulares fragmentos de lignina aromática, respectivamente. (Simpson et al. 2002).

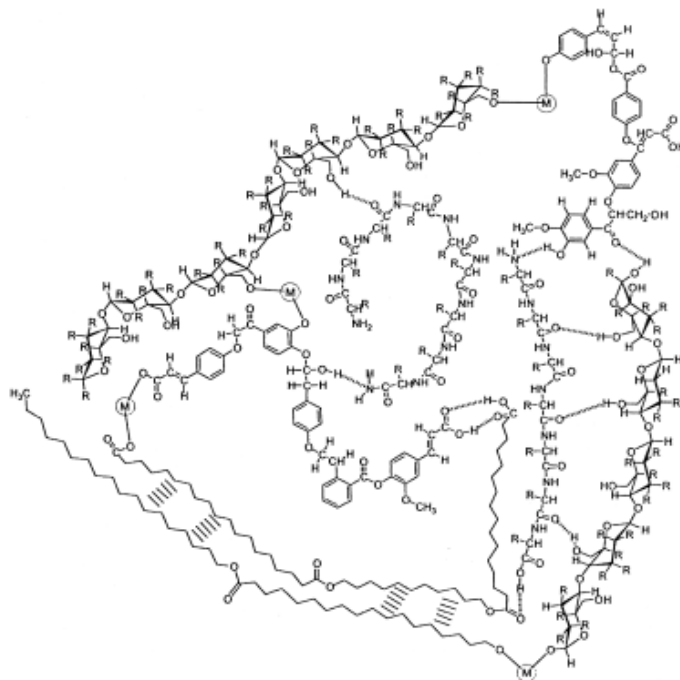


Fig.1.7

Figura 1.7 Una ilustración de Clapp (Clapp et al. 2005) de cómo los componentes de las SH del suelo se asocian en ambientes acuosos en presencia de cationes metálicos para formar agregados. Las esferas marcadas con "M" representan cationes, las líneas discontinuas indican

enlaces H y las líneas discontinuas anchas representan asociaciones hidrófobas, siguiendo a Simpson (Simpson et al. 2002).

1.3.4. Enlace de iones a sustancias húmicas

La interacción de los cationes metálicos con sustancias húmicas es un tema de gran importancia tanto desde el punto de vista fundamental como ambiental y ha atraído la atención de un gran número de investigadores (Clapp et al. 2001; Senesi y Loffredo 2005; Van Riemsdijk et al. 2006 y referencias en el mismo).

En un enfoque general, a menudo es útil considerar la reactividad de cationes metálicos y grupos ligandos. Los cationes inorgánicos se pueden dividir en tres clases de acuerdo con su reactividad con ligandos orgánicos: los cationes duros son aquellos que interactúan principalmente formando electrostáticamente complejos de la esfera externa débil con ligandos de oxígeno duro, como Ca^{2+} , Mg^{2+} , etc.; los cationes blandos son aquellos que tienen una fuerte afinidad por unirse covalentemente a ligandos intermedios y blandos como N o S, e incluyen Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} ; y los cationes intermedios o "límitrofes" tienen un carácter intermedio que forma enlaces relativamente fuertes con ambos tipos de ligandos. Por otro lado, los ligandos duros (bases de Lewis) incluyen grupos carboxilato, éster, OH fenólico y alcohólico, carbonilo y éter; los ligandos intermedios son principalmente aquellos que contienen nitrógeno (aminas, amidas, etc.) y las bases blandas son principalmente grupos que contienen S (Buffle 1988). Por lo general, se espera que los cationes duros reaccionen preferiblemente con ligandos duros, etc. sin embargo, se observan excepciones, por ejemplo, $\text{Pb}(\text{II})$, un catión blando forma complejos de coordinación estables con carboxilatos, un ligando duro.

Al igual que con los componentes del suelo mineral, las técnicas espectroscópicas modernas han sido de gran ayuda para dilucidar las estructuras existentes alrededor de los complejos entre AH y cationes metálicos. Los estudios XAS (Espectroscopía de absorción de rayos X) -tanto XANES (Estructura de absorción de rayos X cerca del borde) como EXAFS (Estructura de absorción de rayos X extendida)- han arrojado luz sobre el entorno de coordinación de los cationes metálicos, según lo revisado por varios autores (Bloom, Bleam y Xia 2001; Senesi y Loffredo 2005). En estos y otros estudios más recientes (Karlsson, Persson y Skyllberg 2006; Gustafsson et al. 2007; Karlsson y Persson 2010), la mayoría de la evidencia apunta a la existencia de complejos tetragonales de esfera interna para cationes como $\text{Cu}(\text{II})$ y $\text{Pb}(\text{II})$ y coordinación octaédrica para otros como $\text{Fe}(\text{III})$, $\text{Ni}(\text{II})$, $\text{Co}(\text{II})$ o $\text{Zn}(\text{II})$. En todos los casos, la primera esfera de coordinación es

consistente con los átomos de ligando O ó N, porque en la técnica de absorción de rayos X, estructura fina (EXAFS) no es posible distinguir entre ambos; sin embargo, dada la proporción muy diferente de O sobre N en sustancias húmicas, generalmente se acepta que la primera capa está formada principalmente por átomos de O. En la segunda capa, generalmente se encuentran de 2 a 4 átomos de C, lo que indica una coordinación múltiple para una o dos moléculas de SH. La figura 1.8 muestra una estructura propuesta para la unión de Cu (II) a MO natural (MON), después de examinar mediante EXAFS cuatro muestras de MOS y tres muestras de MO disuelta (MOD) (Karlsson, Persson y Skyllberg 2006). Varios estudios sugieren un comportamiento similar para Pb (II) (Xia, Bleam y Helmke 1997; De La Rosa et al. 2005). En un estudio detallado sobre la interacción de Fe (III) con ácido húmico de turba (Karlsson y Persson 2010) se descubrió que los complejos mononucleares se forman exclusivamente a bajas cargas de Fe, pero a altas cargas, una mezcla de complejos mononucleares y Fe polimérico (III) (hidr) se encontraron óxidos con una cantidad creciente de óxidos de Fe (III) (hidr) a pH más alto. Se detectaron estructuras de quelato para los complejos mononucleares, y no se observó una reducción apreciable de Fe (III).

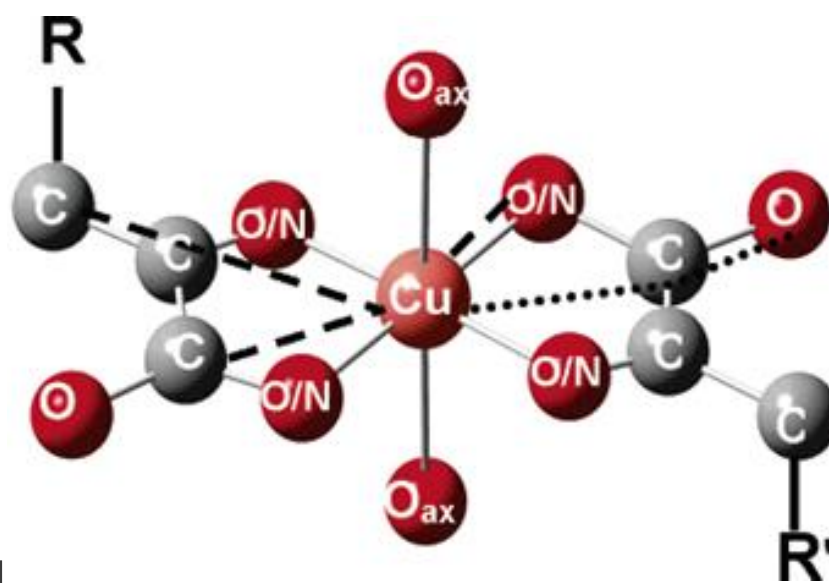


Figura 1.8. Estructura promedio para Cu (II) en MON (materia orgánica natural) según Karlsson et al. (Karlsson, Persson y Skyllberg 2006). Las líneas discontinuas indican las tres rutas de dispersión única (SS simple scatter), y la línea de puntos indica la ruta de dispersión múltiple (MS multiple scatter), identificada en el análisis EXAFS. Los oxígenos axiales más distantes (O_{ax}) no se incluyen en los ajustes finales a los datos EXAFS. R representa cadenas de carbono. (Karlsson, Persson y Skyllberg 2006).

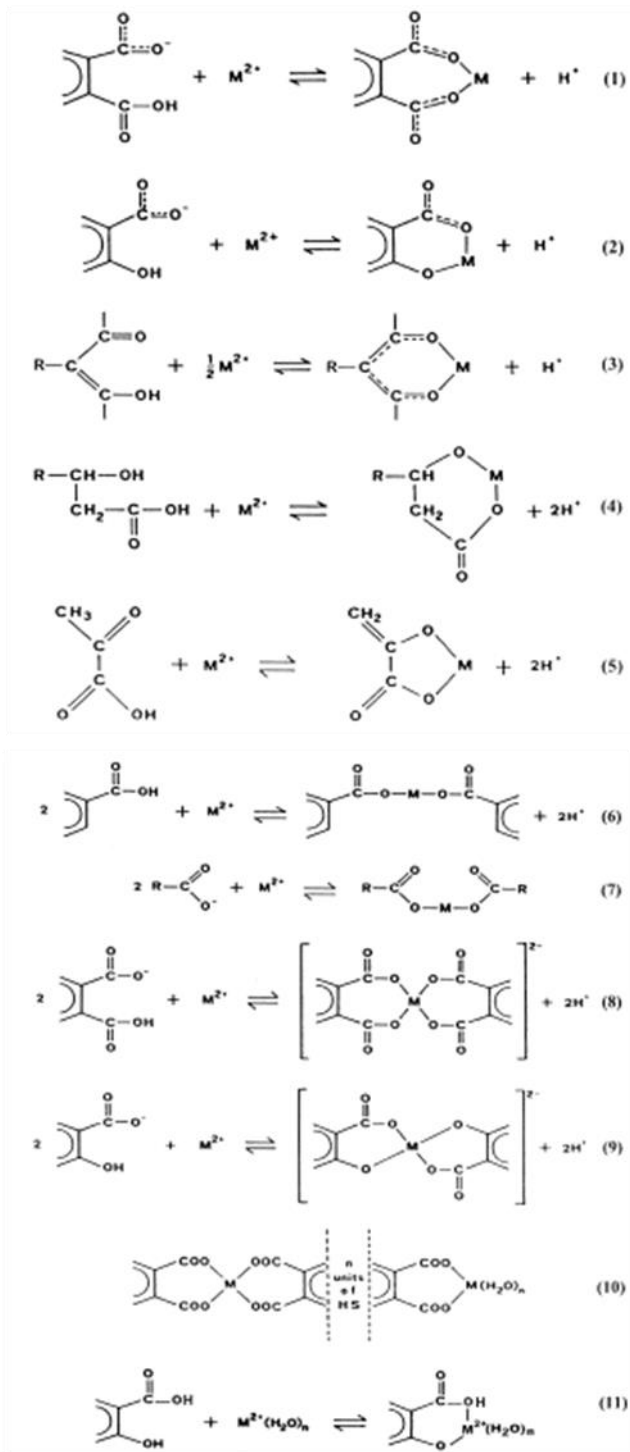


Figura 1.9. Diferentes estructuras de complejación metal-húmica propuestas por Senesi y Loffredo. (Senesi y Loffredo, 2005)

Otros estudios de interacciones metal-SH incluyen experimentos de RMN (Kingery et al. 2001; Senesi y Loffredo 2005 y referencias allí citadas) que se han utilizado para correlacionar estructuras alrededor de centros metálicos con las características de enlace metal-SH, dilucidar

mecanismos de enlace y determinar constantes de equilibrio de complejación. Las mediciones de IR son menos útiles, pero generalmente confirman que los grupos carboxilato son a menudo el ligando principal para metales complejados (Davies et al. 2001).

Senesi y Loffredo (Senesi y Loffredo 2005) han propuesto, sobre la base de los resultados experimentales disponibles, una serie de posibles estructuras de complejación metal-SH, que se muestran en la Figura 1.9. Cabe señalar que las estructuras de quelatos son predominantes, y que en algunos casos se propone un puente metálico entre dos moléculas diferentes.

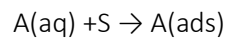
1.4. SORCIÓN EN PARTÍCULAS COLOIDALES

1.4.1. Conceptos generales

Las moléculas e iones individuales interactúan entre sí mediante una variedad de fuerzas, que van desde enlaces químicos fuertes e interacciones de Coulomb (para iones), hasta fuerzas dipolares y de dispersión relativamente débiles; estas interacciones provienen de la naturaleza misma de la materia (McQuarrie y Simon 1997; Berry, Rice y Ross 2000; Atkins y Paula 2009; Levine 2008), y los resultados de la presencia de tales interacciones van desde la formación de nuevas moléculas o complejos a la condensación de gases en líquidos y sólidos. Por las mismas razones y con las mismas fuerzas, las pequeñas moléculas e iones interactúan con las superficies, y también con macromoléculas y cuerpos sólidos como las partículas coloidales. Como consecuencia de eso, los iones y las moléculas se unen a la superficie de partículas sólidas como los óxidos y minerales de arcilla, un fenómeno llamado adsorción (Delahay 1965; Lyklema 1991; Shaw 1992; Hiemenz y Rajagopalan 1997; Adamson y Gast 1997; Israelachvili 2010) Los coloides de materia orgánica natural, como las sustancias húmicas, se comportan más como partículas permeables (Ohshima y Kondo 1993; Kuo y Hsu 1999; Duval et al. 2005), lo que permite que pequeños iones y moléculas penetren y se unan a los sitios internos, lo que constituye absorción. Sorción es el término general que incorpora ambos conceptos

1.4.2. Isotermas de sorción

En un proceso de sorción, una especie de una fase fluida se une a la superficie de (en el caso de la adsorción) o al interior de (para la absorción) otra fase condensada. Por lo tanto, se puede encontrar sorción de moléculas de gas a líquidos, adsorción de moléculas de gas a la superficie de líquidos o sólidos, o sorción de especies de solutos (iones o moléculas) de la solución a partículas sólidas. Una isoterma de adsorción o, más generalmente, una isoterma de sorción, es una relación de equilibrio entre la actividad (o fugacidad) de la especie a unir, el sorbato, en la fase masiva, y la actividad del sorbato unido. El proceso puede considerarse formalmente como una reacción química, por ejemplo, en el caso de la adsorción de una solución acuosa:



donde A es el adsorbato y S es un sitio de superficie.

La cantidad de adsorbato unido generalmente se expresa en términos de exceso de superficie o concentración Γ_A , o como cantidad por unidad de masa de sorbente:

$$Q_A = \frac{n_A}{m_s} = \Gamma_A A_S \quad (1.2)$$

donde: A_S = área superficial específica o área por unidad de masa, Q_A = cantidad de adsorbato unido (mol/kg), Γ_A = concentración superficial o número de sitios ocupados por A (mol/m²), n_A es el número de moles de adsorbato y m_s es la masa de sorbente (fase sólida); también se puede expresar de manera relativa, como grado de cobertura:

$$\theta_A = \frac{\Gamma_A}{\Gamma_S} = \frac{Q_A}{Q_S} \quad (1.3)$$

Donde Γ_S y Q_S representan la cantidad máxima unida en una sola capa que cubre la superficie (cobertura de saturación), θ_A = grado de cobertura o de cubrimiento = sitios ocupados por A sobre sitios totales en S, Γ_S = sitios totales del sorbente.

Por lo tanto, la isoterma de adsorción para el proceso de adsorción es formalmente una función:

$$\Gamma_A = f(a_A) \quad \text{or} \quad Q_A = f'(a_A) \quad \text{or} \quad \theta_A = f''(a_A) \quad (1.4)$$

donde los primos significan funciones formalmente diferentes, no derivadas.

1.4.2.1. Clasificación de las isotermas de sorción en solución

Cuando los procesos de sorción ocurren en fases condensadas, el caso habitual es la sorción de un soluto de una fase líquida (solución) en un sólido. En una solución, las moléculas de solvente están presentes en casi todas partes, de modo que la adsorción de las moléculas de un soluto es en realidad un proceso de intercambio entre solvente y soluto. La figura 1.10 ilustra esto: la molécula señalada por una flecha necesita la eliminación de una molécula solvente de la superficie para adsorberse en la misma.

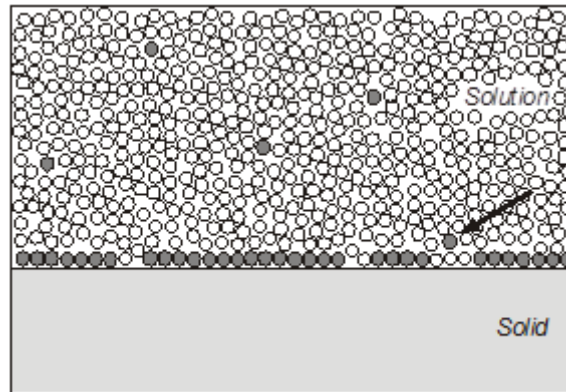


Figura 1.10 Dibujo esquemático de la situación para la adsorción de la solución; los círculos abiertos representan moléculas solventes y los círculos rellenos grises son moléculas soluto. La unión de una molécula de soluto a la superficie, tal como indica la flecha, requiere la eliminación de una o varias moléculas de solvente de la superficie.

Las isotermas de sorción en solución han sido clasificadas por Giles et al. (Giles, Smith y Huitson 1974), y revisado por otros autores, por ejemplo, Hinz (Hinz 2001). Se clasifican principalmente por la forma inicial y la pendiente, y se dividen en subtipos o subgrupos. A continuación, los diferentes tipos se muestran esquemáticamente junto con algunos ejemplos. Aquí, se grafican en función de la concentración de equilibrio de adsorbato como se hace comúnmente; estrictamente, la variable correcta es la actividad, pero la concentración es la variable controlada experimentalmente. Además, en algunos casos (por ejemplo, con materia orgánica natural, cuya composición exacta se desconoce) la actividad no es accesible. Igualmente, es mejor poner en abscisas el logaritmo de actividad o concentración, ya que está más directamente conectado con el potencial químico.

Existen subgrupos definidos principalmente por el grado de adsorción alcanzado. Cabe señalar que, a menudo, debido a la naturaleza de los sistemas, el rango de concentración accesible

experimentalmente es limitado, por lo tanto, la cantidad máxima sorbida puede estar lejos de la cobertura de saturación.

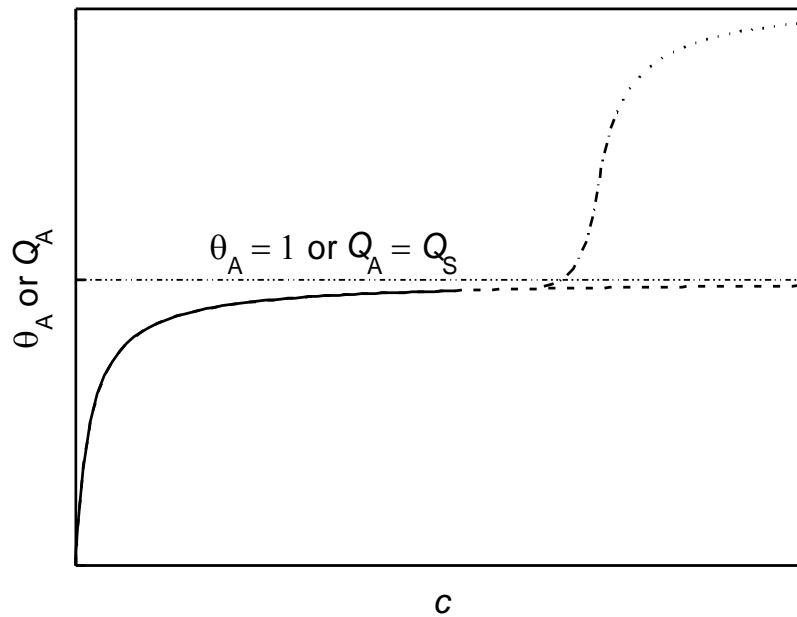


Figura 1.11 Gráfico de ejemplo de una isoterma tipo L y sus subtipos. Línea continua: subtipo 1; línea discontinua: subtipo 2; línea de punto y guión: subtipo 3; línea punteada: subtipo 4.

La figura 1.11 muestra las isothermas tipo (grupo) "L" (L significa tipo de baja afinidad, en comparación con el siguiente grupo). Los diferentes tipos de línea se refieren a los subgrupos: el subgrupo 1 (línea continua) corresponde a casos en los que no se alcanza la saturación de monocapa dentro del rango de concentración accesible experimentalmente; el subgrupo 2 (línea discontinua) muestra la saturación de monocapa; el subgrupo 3 (línea de punto y guión) muestra un aumento de la sorción más allá de la monocapa, y el subgrupo 4 presenta saturación para más de una monocapa. Giles et al. dieron ejemplos para todos los grupos y subgrupos. (Giles, D'Silva y Easton 1974).

La figura 1.12 muestra esquemáticamente el grupo H de isothermas según Giles. Un ejemplo es la adsorción de especies As (III) y (V) en óxido de hierro (Dixit y Hering 2003). Se ha dicho con frecuencia que este tipo es similar al grupo L pero con una pendiente inicial más alta. Sin embargo, debe señalarse que, mientras que el tipo L generalmente corresponde a un solo proceso (un tipo de sitios), las isothermas de tipo H se pueden encontrar para dos procesos diferentes (dos tipos de sitios), uno de afinidad relativamente más alta y otro con una afinidad relativamente menor.

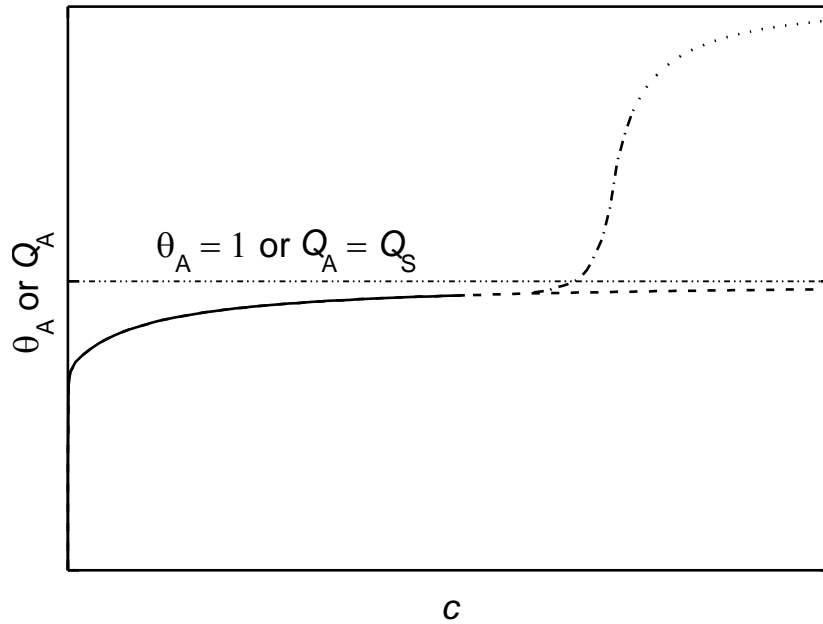


Figura 1.12. Ejemplo de diagrama de una isoterma tipo H y sus subtipos. Línea continua: subtipo 1; línea discontinua: subtipo 2; línea de punto y guión: subtipo 3; línea punteada: subtipo 4.

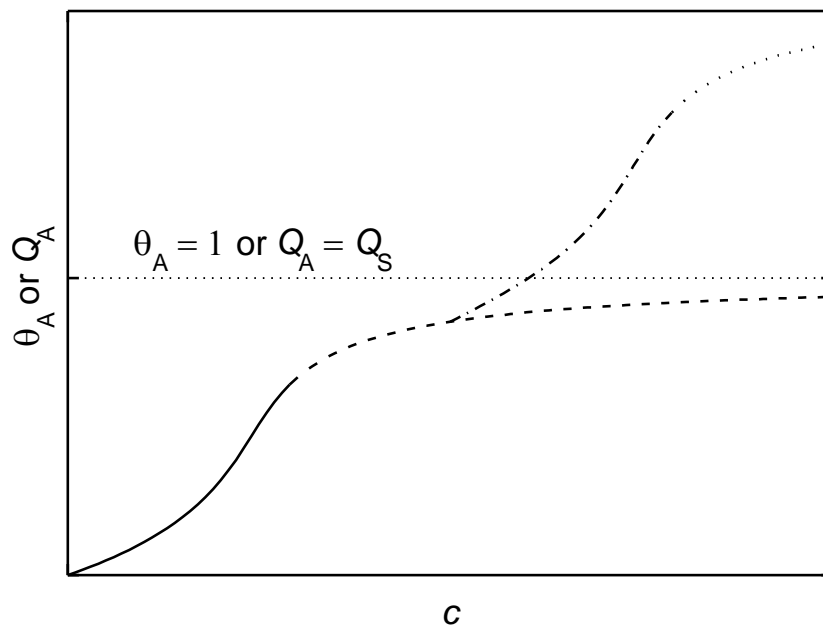


Figura 1.13 Ejemplo de diagrama de una isoterma de tipo S y sus subtipos. Línea continua: subtipo 1; línea discontinua: subtipo 2; línea de punto y guión: subtipo 3; línea punteada: subtipo 4.

La figura 1.13 muestra las isoterma típicas que pertenecen al grupo "S", que se caracteriza por una baja pendiente inicial; además, las isoterma S tienen una forma cóncava a bajas

concentraciones. Estas isothermas pueden tener dos causas: primero, las fuerzas de atracción soluto-soluto en la superficie pueden causar una adsorción cooperativa que conduce a un aumento de la afinidad y, en consecuencia, a la forma de S; segundo, la sorción de un soluto puede ser inhibida por una reacción competitiva dentro de la solución, tal como una reacción de complejación con un ligando. En muchos casos se mide la cantidad total de un soluto y no la actividad de las diferentes especies. Por ejemplo, un metal pesado puede formar un complejo estable con un agente quelante. La medición de la concentración total de metales conducirá a una isoterma que describe la cantidad absorbida a la fase sólida en función de la cantidad total de metal en solución, en lugar de la actividad (o concentración) de metal libre. Las sustancias orgánicas a menudo muestran isothermas en forma de S (Aharonson y Kafkafi 1975).

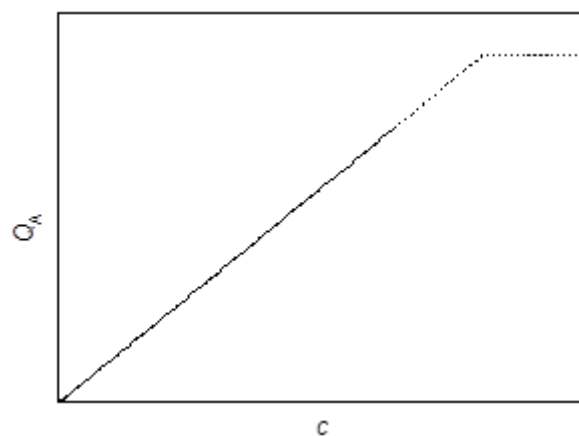


Figura 1.14 Ejemplo de diagrama de una isoterma de tipo C y sus subtipos. Línea continua: subtipo 1; línea discontinua: subtipo 2.

La figura 1.14 muestra las isothermas típicas que pertenecen al grupo "C", que se caracteriza por una pendiente constante; esto ha sido atribuido por Giles et al. (Giles, Smith y Huitson 1974) al número de sitios libres que permanecen constantes durante el proceso, es decir, a que la superficie se expande a medida que avanza la sorción. Giles y col. adjudicaron esto, entre otras posibles causas, a los sólidos microporosos donde los poros se abren cuando las moléculas de adsorbato entran en ellos. Como la mayoría de los procesos de sorción se comportan linealmente a bajas coberturas, la sorción de solutos traza, generalmente, muestra isothermas lineales. Muchos compuestos orgánicos muestran isothermas tipo C (Wang, Gamble y Langford 1992).

1.4.3. La naturaleza física de la adsorción.

1.4.3.1. Adsorción de fase gaseosa

Ahora se considera el proceso de adsorción desde un punto de vista microscópico, comenzando a analizar la adsorción desde la fase gaseosa (Hiemenz y Rajagopalan 1997; Adamson y Gast 1997; Levine 2008). La figura 1.15 muestra una vista simplificada del proceso de interacción de una molécula de gas como Ar (esfera negra) con una superficie sólida como el grafito (esferas grises).

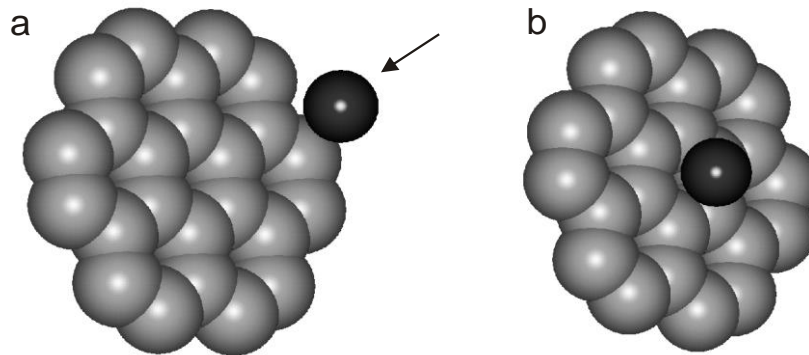


Figura 1.15 Vista esquemática de la adsorción de una molécula de Ar en una superficie de grafito.

En la figura 1.15a, la molécula se acerca a la superficie con una energía cinética que cae en la distribución de Boltzmann (Berry, Rice y Ross 2000; Levine 2008; McQuarrie y Simon 1997; Atkins y Paula 2009). En b, la molécula ha alcanzado la superficie, donde puede rebotar y volver a la fase gaseosa, o permanecer en la superficie durante un tiempo finito. El resultado depende de las energías involucradas: la energía cinética de la molécula que llega (dada por la temperatura) y la energía de interacción molécula-superficie. Este último factor depende de la naturaleza del adsorbato y la superficie. Si es comparable en magnitud a la energía térmica, la molécula permanecerá un tiempo en la superficie hasta que se desorba, volviendo a la fase gaseosa. Este es el caso del ejemplo anterior de argón sobre grafito: las fuerzas de Van der Waals (dispersión) serán el único tipo de interacción presente, y la adsorción solo se observa a baja temperatura, cerca o por debajo de la temperatura crítica del argón. Por otro lado, en el caso, por ejemplo, de adsorción de nitrógeno sobre hierro se observa a temperaturas mucho más altas (Emmett y Brunauer 1934), la interacción de la superficie de nitrógeno-hierro es fuerte hasta el punto de que las moléculas de N_2 se disocian. De hecho, esta es la forma en que el proceso de Haber para la síntesis de amoníaco es catalizado por hierro u óxidos de hierro. En este caso, hay fuertes interacciones de enlaces químicos. Los dos ejemplos dados hasta ahora se aplican a los dos tipos principales de adsorción: adsorción física o fisorción y adsorción química o quimisorción. Estos

generalmente se distinguen por la magnitud del calor de adsorción, ΔH_{ads} , que es el cambio de entalpía tras la adsorción; claramente la adsorción es un proceso exotérmico, mientras que la desorción es endotérmica; generalmente el calor de adsorción es dado como positivo por usos y costumbres, aunque correspondería al proceso inverso. En los procesos de fisisorción, es relativamente bajo, similar a las entalpías de vaporización; por ejemplo, para argón en grafito ΔH_{ads} es de aproximadamente 11 kJ mol^{-1} (Avgul y Kiselev 1958) que es comparable al calor de vaporización del Argón de $6,45 \text{ kJ mol}^{-1}$. Los procesos de quimisorción tienen calores más altos, típicamente un orden de magnitud más alto; para la adsorción de N_2 en el hierro a altas temperaturas (aproximadamente $400 \text{ }^\circ\text{C}$) ΔH_{ads} es de aproximadamente 209 kJ mol^{-1} (Brito y Ralek 1978) mientras que su calor de vaporización es de $2,8 \text{ kJ mol}^{-1}$. Cabe señalar que a bajas temperaturas (aproximadamente 75 K), el N_2 muestra adsorción física en el hierro con $\Delta H_{ads} \sim 4 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Kavtaradze y Zelyaeva 1970); al principio, parecería contradictorio, porque a temperaturas más bajas debería prevalecer el proceso energéticamente más favorable, la quimisorción. Sin embargo, este último proceso es una reacción química con una energía de activación (la adsorción física no tiene energía de activación, en principio); a bajas temperaturas, las moléculas adsorbentes no pueden superar la barrera de activación y, por lo tanto, se evita cinéticamente la quimisorción.

1.4.3.2. Adsorción desde la solución

Como se dijo antes, aquí el proceso es más complejo debido a la presencia del solvente (Figura 1.16). Ahora la adsorción es un proceso de intercambio, de modo que la entalpía de la adsorción es el equilibrio entre la unión de la superficie de adsorbato y la desunión de la superficie del disolvente. En el proceso de adsorción, el adsorbato se aproxima a la superficie por difusión en la fase condensada, lo que implica un movimiento aleatorio debido a colisiones con moléculas de disolvente, con un camino libre mucho más corto que en la fase gaseosa; en otras palabras, uno puede pensar que el soluto debería "encontrar su camino" hacia la superficie entre una multitud de moléculas de solvente. La interacción entre el adsorbato y la superficie puede tener varias contribuciones, básicamente fuerzas de dispersión, unión química y fuerzas electrostáticas. También hay un cambio de entropía que depende de otros factores, como los cambios de la solvatación de adsorbato en la adsorción. De manera similar a la fase gaseosa, hay casos de adsorción relativamente débil y otros de fuerte unión química; estas situaciones (extremas) generalmente se denominan adsorción no específica y adsorción específica, respectivamente. Estos términos, de hecho, son bastante equivalentes a fisisorción y quimisorción, pero provienen del mundo de la adsorción en fase condensada y electroquímica. Por otro lado, dependiendo de

la ubicación del sorbato que interactúa, especialmente en el caso de los iones, existe otra terminología, como se ilustra en la Figura 1.16.

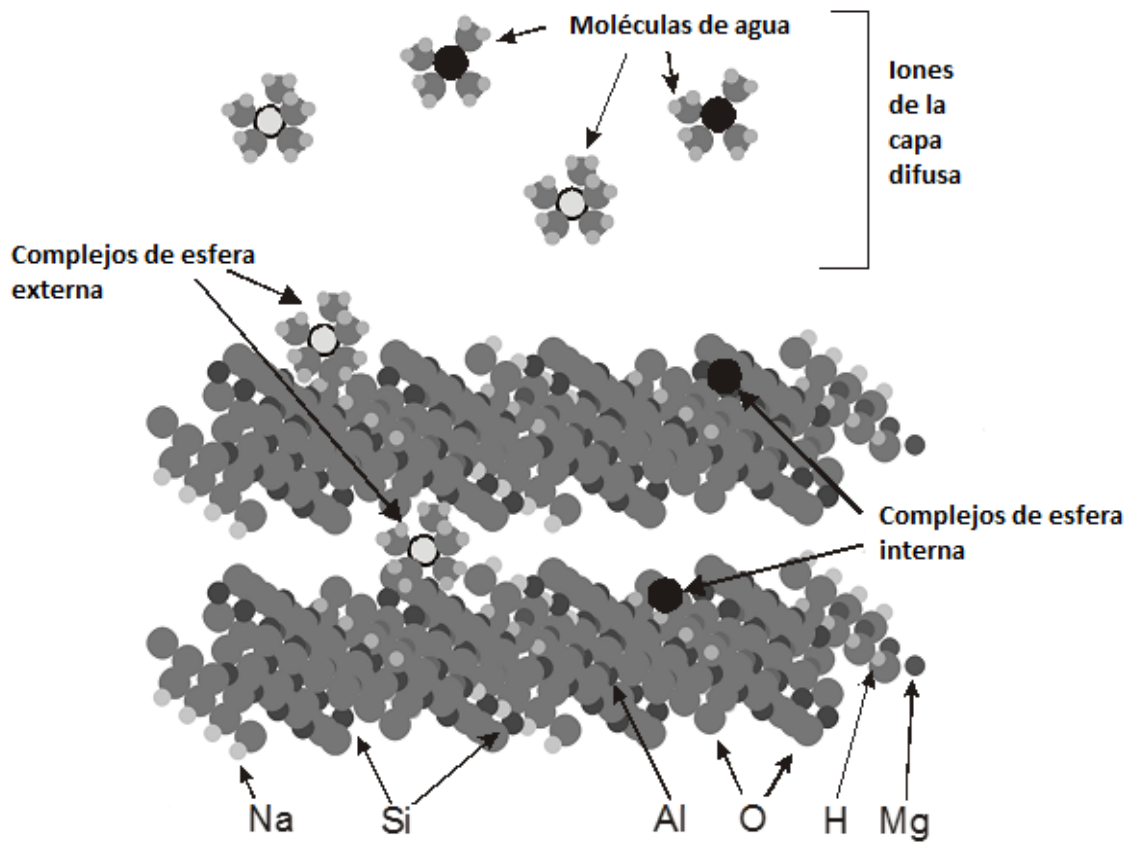


Figura 1.16 Vista esquemática de los diferentes modos de adsorción, clasificados según la ubicación del adsorbato. Los dos grupos horizontales de átomos ilustrados corresponden a dos láminas de mica típicas. El adsorbato puede alcanzar un contacto cercano con la superficie dando un complejo de esfera interna, puede retener su capa de hidratación produciendo un complejo de esfera externa o permanecer más lejos en la región de capa difusa. Adaptado (Wang y Gutiérrez 2010).

En la Figura 1.16, los dos grupos horizontales de átomos ilustrados corresponden a dos láminas de mica típicas. El sorbato puede alcanzar un contacto cercano con la superficie, perdiendo total o parcialmente su capa de hidratación, lo que se denomina complejo de esfera interna. Alternativamente, puede retener su capa de hidratación produciendo un complejo de esfera externa, donde el adsorbato se separa de la superficie por una capa de agua. En el caso de los iones, pueden permanecer más lejos en la región de capa difusa, que es una situación bastante similar al complejo de la esfera externa con respecto a la interacción con la superficie (típicamente, una superficie cargada negativamente que retiene cationes por algunos o todos

estos mecanismos). Los iones retenidos en la esfera externa y la capa difusa son los principales objetos de intercambio iónico, un proceso de fundamental importancia en los suelos.

Cabe señalar que la distinción entre los complejos de la esfera interna y externa no es la misma que la de la sorción específica versus la inespecífica. En un complejo de esfera externa, el adsorbato se separa de la superficie por (al menos) una capa de moléculas de agua que evita cualquier tipo de unión, entonces esta es siempre una adsorción no específica. Por otro lado, un adsorbato en un complejo de esfera interna puede formar algún tipo de enlace químico, pero no necesariamente; por ejemplo, en las micas, los iones K^+ a menudo se encuentran como complejos de esfera interna, pero la interacción es principalmente electrostática, no se forma ningún enlace químico. Por lo tanto, la adsorción específica implica esfera interna, pero lo contrario no es cierto.

1.4.4. Teoría de las isotermas de adsorción

1.4.4.1. Monocapa ideal: isoterma de Langmuir

La isoterma de Langmuir fue propuesta por Irving Langmuir hace más de un siglo (Langmuir 1916; Langmuir 1918), utilizando un razonamiento cinético para la adsorción de gases en los sólidos. Desde entonces se ha revisado en base a fundamentos de mecánica estadística (Hill 1986; Hiemenz y Rajagopalan 1997), por ejemplo. Aquí se sigue el enfoque cinético. Se considera la situación representada en la Figura 1.17, donde se dibuja un fragmento de una superficie - considerada esencialmente infinita, en comparación con las dimensiones moleculares- (esferas grises) con algunas moléculas de adsorbato (esferas negras) en estado gaseoso (1, 2 y 3) o adsorbido (4 y 5).

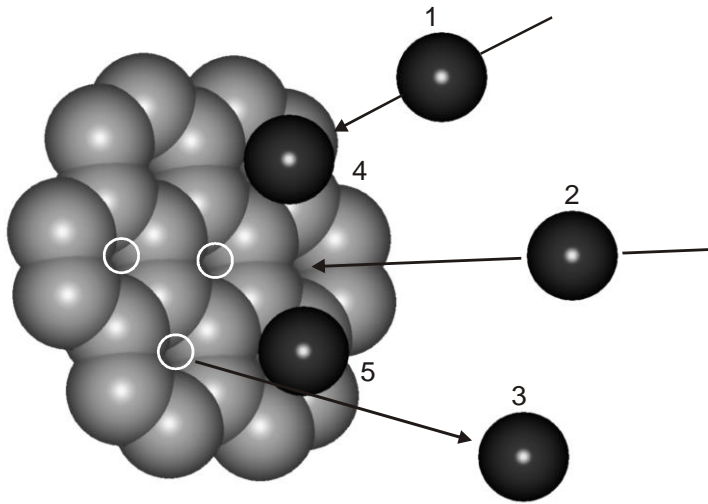


Figura 1.17

Figura 1.17 Imagen esquemática de la adsorción de un gas en un sólido. Los círculos blancos indican (algunos) sitios vacíos. La molécula 1 rebotará contra una molécula ya adsorbida (4) entonces no podrá adsorberse. La molécula 2 podría adsorberse. La molécula 3 acaba de desorberse. La molécula 5 todavía está adsorbida.

El modelo de Langmuir se basa en algunos supuestos fundamentales:

1. La superficie está compuesta de sitios localizados, donde las moléculas de adsorbato eventualmente se adsorberán. En la Figura 1.17, algunos sitios vacíos están marcados con un círculo blanco. Se muestran dos sitios ocupados por moléculas de adsorbato.
2. Todos estos sitios son equivalentes e independientes, lo que significa que la energía de interacción adsorbato-superficie es la misma para todos los sitios y no se ve afectada por el estado (vacío u ocupado) de los sitios vecinos.
3. La adsorción no tiene barrera de activación y, por el contrario, la energía de activación para la desorción es igual en magnitud a la energía de adsorción.
4. La adsorción de una molécula que se adsorbe solo puede proceder en sitios vacíos.

En la figura 1.17 se ilustran estas consideraciones. La molécula 1 está a punto de chocar contra la superficie en un sitio ya ocupado (por la molécula 4), por lo que no puede adsorberse y volverá a la fase gaseosa. La molécula 2 golpeará en un sitio vacío donde puede ser absorbida con cierta probabilidad, y la molécula 3 acaba de ser desorbida; este último proceso debe ocurrir con una probabilidad dependiente de la temperatura.

La velocidad de adsorción y de desorción dependen de (considerando adsorción en solución)

$$v_{ads} = k_{ads} c_A \Gamma_0 \quad (1.5)$$

$$v_{des} = k_{des} \Gamma_A \quad (1.6)$$

Donde Γ_0 es el número de sitios libres en el adsorbente, Γ_A es el número de sitios ocupados por A, c_A es la concentración del adsorbato y k depende de la temperatura, y de la naturaleza del adsorbente y del adsorbato.

En el equilibrio, ambas velocidades son iguales, por lo tanto

$$k_{ads} c_A \Gamma_0 = k_{des} \Gamma_A \quad (1.7)$$

$$Kc_A = \frac{\Gamma_A}{\Gamma_0} = \frac{\Gamma_A}{\Gamma_S - \Gamma_A} \quad (1.8)$$

Donde

$$\Gamma_0 = \Gamma_S - \Gamma_A$$

$$K = \frac{k_{ads}}{k_{des}}$$

La ecuación (1.8) es una expresión matemática de la isoterma de Langmuir.

Si divido numerador y denominador por Γ_S y llamo θ_A al cociente Γ_A / Γ_S , el grado de cubrimiento, entonces:

$$Kc_A = \frac{\theta_A}{1 - \theta_A} \quad (1.9)$$

que es otra expresión matemática de la Isoterma de Langmuir

También se puede despejar θ_A y se obtiene

$$\theta_A = \frac{Kc_A}{1 + Kc_A} \quad (1.10)$$

En cualquiera de sus expresiones, la Isoterma de Langmuir es la ecuación de la adsorción ideal.

Por otro lado, para concentraciones suficientemente bajas, la ecuación 1.10 se convierte en

$$\theta_A = Kc_A \quad (1.11)$$

prediciendo la isoterma de Henry, que es la forma límite a bajas concentraciones.

1.4.4.2. Isotermas de Langmuir competitivas y multisitio

Cuando dos o más adsorbatos están presentes (A, B ...) en contacto con un sólido, ambos tratarán de adsorberse en los sitios vacíos, mientras que aquellos ocupados pueden contener cualquiera de los adsorbatos. Esta es una situación de adsorción competitiva, y la isoterma de Langmuir puede extenderse fácilmente a este caso (Langmuir 1918; Hiemenz y Rajagopalan 1997; Atkins y Paula 2009). Para dos adsorbatos A y B, la velocidad de adsorción de A es:

$$v_{ads,A} = k_{ads,A}(1 - \theta_A - \theta_B)c_A \quad (1.12)$$

y de manera similar para B.

La velocidad de desorción todavía está dada por la ecuación:

$$v_{desA} = k_{desA}\theta_A \quad (1.13)$$

Igualmente, para B, de modo que en equilibrio:

$$K_A c_A = \frac{\theta_A}{1 - \theta_A - \theta_B} \quad (1.14)$$

y también

$$K_B c_B = \frac{\theta_B}{1 - \theta_A - \theta_B} \quad (1.15)$$

Combinando 1.14 y 1.15 se encuentra:

$$\theta_A = \frac{K_A c_A}{1 + K_A c_A + K_B c_B} \quad (1.16)$$

$$\theta_B = \frac{K_B c_B}{1 + K_A c_A + K_B c_B} \quad (1.17)$$

Las ecuaciones 1.14 a 1.17 son formas diferentes de la isoterma de adsorción competitiva de Langmuir; se puede extender fácilmente a más de dos adsorbatos. Se han escrito originariamente para la fase gaseosa, pero igualmente pueden aplicarse a la adsorción de la solución reemplazando la presión por actividad o (aproximadamente) concentración de cada soluto, como se presentan aquí.

Por otro lado, si los sitios de superficie no son todos iguales, sino de diferentes tipos, lo que esencialmente significa que tienen energías de adsorción sustancialmente diferentes, la isoterma de Langmuir se puede extender fácilmente si todos los sitios de cualquier tipo son independientes. Considerando que la superficie esté compuesta de sitios Q_1 de tipo 1 y sitios Q_2 de tipo 2, de modo que $Q_S = Q_1 + Q_2$, y que $f_i = Q_i/Q_S$; la cantidad total adsorbida en la superficie, debido a la independencia del sitio, será dada por (Langmuir 1918; Adamson y Gast 1997; Hiemenz y Rajagopalan 1997)

$$Q_A = f_1 \frac{Q_S K_{1,A} c_A}{1 - K_{1,A} c_A} + f_2 \frac{Q_S K_{2,A} c_A}{1 - K_{2,A} c_A} \quad (1.18)$$

o

$$\theta_A = f_1 \frac{K_{1,A} c_A}{1 - K_{1,A} c_A} + f_2 \frac{K_{2,A} c_A}{1 - K_{2,A} c_A} \quad (1.19)$$

1.4.4.3. Más allá de las isothermas ideales

Hay varias causas para que la ecuación "ideal" (Langmuir) no se pueda aplicar; los más importantes son:

1. Pocas superficies sólidas son homogéneas a nivel molecular.

El supuesto de homogeneidad de la superficie es esencial en la ecuación de Langmuir; de lo contrario, se aplicaría un valor diferente de K a las ecuaciones, y eventualmente en cada sitio de la superficie.

2. Pocas monocapas son ideales.

En muchos casos, las interacciones laterales, es decir, las interacciones entre los adsorbatos vecinos están presentes, lo que hace que los adsorbatos que se adsorben en una superficie no vacía encuentren condiciones diferentes en comparación con los que llegan a una superficie "limpia" (en el sentido de ausencia de adsorbatos distintos del solvente).

3. Las soluciones no suelen ser diluidas.

El proceso de adsorción en medios condensados es complejo e involucra varios tipos diferentes de interacciones: solvente-soluto, solvente-adsorbente y soluto-adsorbente. En las adsorciones que ocurren en solución, como se dijo antes, lo que sucede en realidad es un proceso de intercambio entre el soluto y el solvente; un requisito para que la isoterma de Langmuir siga

siendo válida es que la interacción solvente-superficie sea más débil que la interacción soluto-superficie (Hiemenz y Rajagopalan 1997).

Es importante darse cuenta de que a partir de los datos de equilibrio de adsorción (es decir, la isoterma experimental) en general no se puede distinguir entre los efectos de la heterogeneidad de la superficie y las interacciones laterales. Considerando la constante de equilibrio de adsorción K ; se puede relacionar con la energía de adsorción libre estándar de Gibbs:

$$\Delta G_{ads}^0 = -RT \ln K \quad (1.20)$$

Si una superficie es heterogénea, diferentes sitios tendrán diferentes energías de adsorción y, en consecuencia, diferentes valores de ΔG_{ads}^0 y K . Pero en una superficie homogénea, si hay una energía de interacción w entre dos adsorbatos en un par de sitios vecinos, entonces la primera molécula de adsorbato se adsorberá con un cambio de energía libre igual a ΔG_{ads}^0 , pero la segunda que se adsorba al lado de la primera lo hará con un cambio de energía libre (aproximadamente) igual a $\Delta G_{ads}^0 + w$, y resultará en un valor efectivo diferente de K . La isoterma sola no permite distinguir entre estas dos circunstancias; se necesitará otra información experimental (espectroscópica).

La discusión anterior lleva a señalar que el análisis de isotermas por sí solo produce poca información sobre la naturaleza molecular de la adsorción, simplemente porque no es lo suficientemente sensible a los detalles moleculares. No debería sorprender, por lo tanto, que, en muchos sistemas complejos, las isotermas simples, como la de Langmuir, describan razonablemente bien los resultados experimentales.

1.4.4.4. Heterogeneidad superficial

Un sorbente, especialmente en ambientes naturales como los suelos, generalmente no está compuesto de sitios iguales y equivalentes, sino de varios tipos diferentes, cada uno con sus propias características. Para el caso de una superficie en parches relativamente simple (algunos tipos de sitios), se aplicarán expresiones relativamente sencillas. Sin embargo, para superficies altamente heterogéneas, estará presente un gran número de energías de adsorción diferentes; en estos casos, es mejor tratar la superficie como compuesta de sitios que pertenecen a una distribución continua de energías de adsorción.

Las isothermas Langmuir-Freundlich y Freundlich

Sips (Sips, 1948) ha demostrado que una función de distribución cuasi-gaussiana (como se muestra más adelante, Figura 1.19) conduce a una solución analítica (Ecuación 1.21) para calcular la cantidad adsorbida en un sorbente con heterogeneidad superficial. Aquí, K_m es el valor de K_A correspondiente al máximo (centro) de la distribución y n es un parámetro que define el ancho de la distribución

$$\theta_A = \frac{Q_A}{Q_S} = \frac{(K_m a_A)^n}{1 + (K_m a_A)^n} \quad (1.21)$$

donde a_A es la actividad termodinámica (concentración corregida) de A, que se ha incluido en lugar de la concentración para generalizar a soluciones no ideales. Esta es una isoterma que difiere de Langmuir en el exponente n que afecta la actividad. Para $a_A \rightarrow 0$, la ecuación 1.21 se simplifica a:

$$Q_A = Q_S (K_m a_A)^n = Q_S K'_m a_A^n = B_F a_A^n \quad (1.22)$$

La parte derecha de la ecuación 1.22 se conoce desde hace mucho tiempo como la isoterma de Freundlich (Freundlich 1926), originalmente propuesta por razones puramente empíricas. Por lo tanto, la Ecuación 1.21 se conoce (Sips 1948) como la isoterma de Langmuir-Freundlich (LF) y es una de las expresiones más comúnmente empleadas en los estudios de adsorción. En la ciencia del suelo en particular, es la base para algunos modelos modernos de interacción entre iones y moléculas con partículas del suelo.

Esta ha sido la isoterma aplicada en el presente trabajo de investigación. Si bien representa un modelo relativamente sencillo, permite la comparación entre los AH obtenidos por diversos métodos de extracción y purificación, y ha sido extensamente utilizada en la literatura en esta temática.

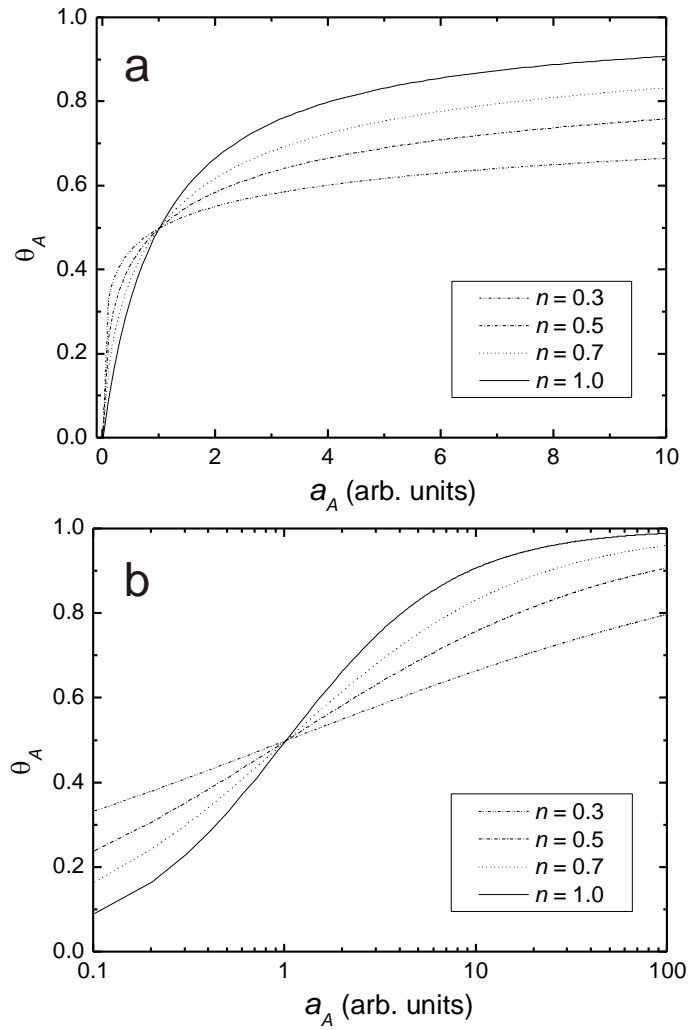


Figura 1.18 Gráficos de la isoterma Langmuir -Freundlich para diferentes valores del exponente n . (a) escala de actividad lineal; (b) escala de actividad logarítmica.

En la figura 1.18 se presenta la forma de la isoterma para diferentes valores de n . Por supuesto, $n = 1$ es la isoterma pura de Langmuir.

Para una superficie ideal, donde todos los sitios son iguales, $n=1$, porque hay una sola constante. Como los AH son sustancias complejas aparecen muchas constantes (que se modelan con una distribución aproximadamente gaussiana) y n indica el rango de variación de las constantes.

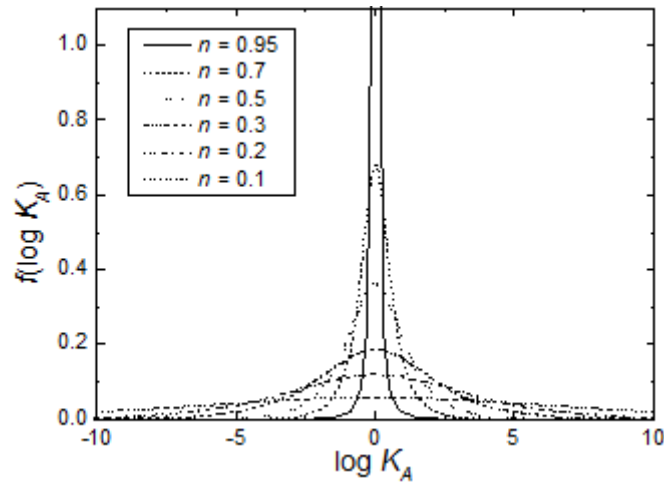


Figura 1.19. Influencia del exponente n en la forma de la distribución.

A medida que n disminuye, la pendiente inicial aumenta, pero la aproximación al valor asintótico es más lenta, como se evidencia en la Figura 1.18 b

Este comportamiento se debe a la distribución subyacente, como se ve en la Figura 1.19: para valores de n más bajos, la distribución es más ancha y hay una mayor fracción de sitios con afinidades altas y bajas; los sitios de alta afinidad se pueblan rápidamente a medida que aumenta la concentración, pero los sitios de baja afinidad requieren mayores concentraciones (actividades) para ser ocupados. Una limitación de la isoterma de LF es que no se reduce a la ecuación de Henry en $\theta_A \rightarrow 0$. Tóth (Ver Jaroniec y Tóth 1976 y las referencias allí citadas) propuso una ecuación con una forma diferente bajo similares supuestos:

$$\theta_A = \frac{K_A a_A}{\left[1 + (K_A a_A)^n\right]^{1/n}} \quad (1.23)$$

que en actividades bajas se reduce a la ecuación de Henry, pero ya no es compatible con la isoterma de Freundlich.

1.4.5. Otras isothermas

Desde casi un siglo, a partir de los trabajos anteriores de Langmuir y Freundlich, se han propuesto y comparado muchos modelos e isothermas diferentes (Parsons 1964; Delahay 1965; Kinniburgh 1986; Tóth 1995; Aranovich y Donohue 1996; Rocha et al. 1997; Donohue y Aranovich 1998;

Marczewski 2002), especialmente en la ciencia de los alimentos (van den Berg y Bruin 1981; Iglesias y Chirife 1982).

Tabla 1.4 Algunas ecuaciones de isotermas comunes

Nombre	Isoterma	Supuestos básicos
Henry	$\theta_A = \frac{Q_A}{Q_S} = K_A a_A$	$\theta_A \rightarrow 0$
Langmuir	$\theta_A = \frac{K_A a_A}{1 + K_A a_A}$	Adsorción localizada, sitios idénticos, sin interacciones laterales.
Brunauer- Emmet-Teller (BET)	$\theta_A = \frac{ca_A}{(1-a_A)[1+(c-1)a_A]}$ $a_A = P_A / P_V$	Adsorción localizada, sitios idénticos, sin interacciones laterales, multicapa, similar a un líquido desde la segunda capa hacia arriba.
Langmuir- Freundlich	$\theta_A = \frac{(K_A a_A)^n}{1 + (K_A a_A)^n}$ $0 < n \leq 1$	Isoterma de Langmuir con heterogeneidad de superficie cuasi-gaussiana (distribución de energía)
Freundlich	$\theta_A = K a_A^n$ $0 < n \leq 1$	Langmuir-Freundlich para $a_A \rightarrow 0$; anteriormente empírico
Langmuir generalizada	$\theta_A = \left[\frac{(K_A a_A)^n}{1 + (K_A a_A)^n} \right]^{\frac{m}{n}}$	Sorbente heterogéneo con distribución asimétrica. Extensión de LF

La Tabla 1.4 resume las ecuaciones de isoterma discutidas hasta ahora más alguna otra, agregada para comparación. La isoterma generalizada de Langmuir (GL o Marczewski-Jaroniec) es una generalización de la isoterma de LF (Marczewski y Jaroniec 1983; Jaroniec y Marczewski 1984) que permite distribuciones asimétricas de energía libre: el parámetro m caracteriza la parte de

alta energía de la distribución, mientras que el parámetro n hace lo mismo para la parte de baja energía. Además, dependiendo de estos parámetros, la ecuación GL se reduce a otras formas: para $m = n = 1$ se obtiene la isoterma de Langmuir; para $m = n \leq 1$ se obtiene la ecuación LF; para $n = 1$ y $m \leq 1$ se encuentra una forma de "Freundlich generalizado" (Jaroniec y Marczewski 1984), y para $m = 1$ y $n \leq 1$ se recupera otra isoterma (de Tóth). Sin embargo, la isoterma GL se basa, parcialmente, en bases empíricas.

1.5. METALES PESADOS

1.5.1. Rol de los metales pesados en el suelo

Una variada proporción de metales pesados- definidos como elementos de densidad superior a 5g cm^{-3} - se encuentra en los suelos en forma natural, a causa de diversos procesos geoquímicos, derivados del material parental o distribuidos en la superficie. Este contenido se denomina fondo geoquímico y difiere significativamente en las diversas zonas geográficas (Adriano 2001; Kabata-Pendias 2011).

Tabla 1.5 Algunos elementos traza, especies dominantes, contenido promedio en el suelo y posible efecto en los componentes bióticos del medio.

Elemento	Especie dominante en suelos	Contenido promedio en suelos (ppm)	Efecto en la salud de la biota
Ag	Ag ⁺	0.05	Tóxico para animales.
As	AsO ₄ ³⁻	6	Tóxico para plantas y animales.
Cd	Cd ²⁺	0.35	Tóxico para animales.
Co	Co ²⁺	8	Nutriente para plantas y animales.
Cr	Cr ³⁺ , CrO ₄ ²⁻	70	Nutriente para animales. Cr (VI) es carcinogénico.
Cu	Cu ²⁺	30	Nutriente para plantas y animales; tóxico sobre determinados niveles.
Mo	MoO ₄ ²⁻	1.2	Nutriente para plantas y animales; tóxico sobre determinados niveles.
Pb	Pb ²⁺	19	Tóxico para plantas y animales.
Zn	Zn ²⁺	70	Nutriente para plantas y animales; tóxico sobre determinados niveles.

Sumner, Handbook of Soil Science, 2000.

En la tabla 1.5 se muestran algunas especies dominantes de metales traza en suelos, su contenido promedio y las posibles consecuencias sobre los componentes bióticos del medio.

En todo el mundo se ha estudiado vastamente la existencia de elementos en el ambiente potencialmente tóxicos. Se sabe que tienen la característica de acumularse y permanecer en diferentes constituyentes del medio, pudiendo perdurar por prolongados períodos. La presencia y distribución de elementos como el Cu, Cr, As, Pb y Cd han sido examinados también en nuestro país (Lavado et al. 1998; Roca, Pazos y Bech 2008; Rodriguez et al. 2014). Se han encontrado concentraciones de metales traza parecidas a suelos no contaminados en otros continentes, en zonas agrícolas de la Región Pampeana Argentina (Zubillaga y Lavado 2002; Lavado et al. 2004). Pero en suelos más densamente poblados de la zona, como ciudades y suburbios, se encontraron concentraciones superiores a las indicadas por la Organización Mundial de la Salud (Lavado et al. 1998) y cantidades potencialmente tóxicas de Pb en algunos humedales del norte de la provincia de Santa Fe, probablemente debido a la caza ilegal de patos (Romano et al 2015). La movilidad y biodisponibilidad de metales pesados, especialmente del plomo, depende fuertemente de los componentes bióticos y abióticos del suelo y constituye un importante problema ambiental.

Un suelo contaminado es *“aquel cuyas características han sido alteradas por la presencia de componentes químicos de carácter peligroso de origen humano, en concentraciones que comporten un riesgo inaceptable para la salud humana o los ecosistemas”* (BOE, 2005).

Los metales pueden hallarse disueltos como iones en la fase líquida del suelo o encontrarse formando parte de la fase sólida, ya sea en la fracción mineral como en la orgánica, incorporados en equilibrios dinámicos de distribución regulados por mecanismos de sorción y desorción. Si se encuentran en la solución del suelo, serán fácilmente transportados a cursos de agua superficiales o subterráneos o serán absorbidos por plantas. Cuando está sorbido de manera reversible a la fase sólida, tiene la posibilidad de participar en posteriores procesos de distribución entre las fases líquida y sólida. Con el paso del tiempo, los procesos de sorción pueden evolucionar hacia una situación de mayor o menor riesgo ambiental, dependiendo del aumento o disminución de la disponibilidad de metales pesados en el suelo con respecto a la situación inicial (McDonald 2000). Esta dinámica de interacción está afectada por las condiciones climáticas que pueden ocasionar la descomposición de la MOS y afectar la estructura de la fase mineral (Porta et al. 2003).

1.5.1.1. Efecto del pH

El pH es un parámetro que afecta el comportamiento de los metales en el suelo y sus propiedades (Tack 2010, Young 2013). La carga negativa presente en la superficie de la fase sólida del suelo determinará el número de sitios de sorción disponibles para la interacción con especies catiónicas. Entonces, se observará menor sorción en suelos ácidos a causa de la protonación de los grupos funcionales de la fase sólida, con una disminución del coeficiente de distribución entre ambas fases (Elliot y Huang 1981). En cambio, un entorno alcalino favorecerá la desprotonación de los grupos funcionales, el aumento de la carga negativa en la fase sólida con coeficientes más elevados y el consecuente incremento de la sorción de metales.

En forma indirecta, el pH también influye sobre la movilidad de metales pesados en el suelo. Ambientes neutros o ligeramente alcalinos se asocian a una menor solubilidad de los metales pesados debido a la formación de complejos de esfera interna e hidróxidos metálicos relativamente insolubles en los constituyentes del suelo (McBride 1994; Sparks 2003). Asimismo, los entornos alcalinos pueden promover la formación de complejos hidroxilados o de bicarbonatos solubles, o disolver aniones complejantes formando complejos en solución de ácidos húmicos o fúlvicos, con la consecuente lixiviación de metales desde la fase sólida (Alloway 2013b; van der Sloot et al. 1996).

1.5.2. Contaminación con plomo

El Pb se encuentra presente de forma natural en suelos no contaminados, en concentraciones inferiores a 20 mg kg^{-1} (Steinnes 2013). Su forma química más abundante es el sulfuro de plomo (PbS, galena), pero también se lo suele encontrar formando carbonatos y sulfatos.

Muchas y variadas actividades antropogénicas generan Pb como desecho en el ambiente, entre ellas aditivos antiguos para combustibles que a pesar de haberse quitado del expendio hace más de dos décadas, aún permanecen en el medio (Fermer et al. 1997; Lavado et al. 1998; Mielke, Laidlaw y Gonzales 2011). También los residuos de baterías de vehículos (Hamzeh, Aftabi y Mirzaee 2011), la corrosión de estructuras metálicas (Osman, 2014), la cacería con municiones de plomo (Ferreyra, Romano y Uhart 2009; Selonen et al. 2012), la minería y otras actividades industriales como la metalurgia, fabricación de pesticidas y plásticos, la producción de papel (Arrouays et al. 1996; Tarcan et al. 2010), la fabricación de pinturas y esmaltes (Needleman 2004). Cuando los desechos de estas actividades productivas no son gestionados adecuadamente, los elementos contaminantes pueden ser dispersados por el viento o a través del agua en las cercanías del lugar de almacenamiento (Razo et al. 2004). Luego, las especies solubles de Pb(II) presentes en el suelo suelen ser absorbidas por las plantas ingresando de este modo a la cadena trófica (Wierzbicka y Antosiewicz 1993).

El Pb es un metal no esencial que causa serios daños a los seres vivos. En humanos, puede provocar anemia, daños renales, lesiones cerebrales, perjuicios digestivos y retardo del crecimiento en niños (Zevenhoven y Kilpinen 2001).

1.5.3. Remediación de suelos con MO

Dada la lentitud de los procesos biogeoquímicos que definen las características de un suelo, se lo puede considerar como un recurso no renovable en términos prácticos, y por lo tanto es prioritario su cuidado, más allá de la disponibilidad de los recursos naturales, evitando su degradación progresiva a causa de los desechos generados por las actividades humanas.

Los metales pesados en el suelo representan un problema ambiental que requiere atención dada la gran toxicidad y la prolongada persistencia en el tiempo. Es un problema a escala global que conviene mitigar debido a las consecuencias ambientales que conlleva. Para su remediación se diseñan diversas estrategias tendientes a eliminarlos o al menos reducir su concentración y/o biodisponibilidad. Para este último caso, existen estudios que avalan la utilización de enmiendas

orgánicas que son capaces de aumentar la inmovilización de los metales pesados en la mezcla resultante, teniendo en cuenta que la MO posee la capacidad de formar complejos estables con los metales pesados. Por lo tanto, su uso en la remediación de suelos puede ser una estrategia viable para reducir el riesgo asociado a este tipo de contaminación. De esta forma se reduce su concentración en la solución de suelo y, también su integración a otros sectores del ambiente y se minimiza su incorporación a la cadena trófica. Han sido probadas enmiendas de diferentes orígenes, tanto naturales como sintéticas, y el interés creciente se centra en el uso de materiales orgánicos procedentes de biomasa diversa. Presentan variadas ventajas pues además de su potencial capacidad de aumentar la inmovilización de metales pesados en suelos, mejoran la calidad de este por su aporte de nutrientes y la capacidad de mayor retención de agua. (Venegas Sepúlveda 2015).

2 EXPERIMENTACIÓN

2.1. SUELO

En este trabajo de investigación, se utilizaron muestras de suelos de dos localidades bonaerenses: San Pedro y Junín.



Figura 2.1: Localización de los sitios de extracción de muestra (a) San Pedro, (b) Junín, (c) ubicación relativa de ambos sitios de extracción.

2.1.1 Caracterización de las muestras de suelo

Como primera etapa del trabajo experimental se procedió a la obtención y caracterización de muestras de suelo de la pampa húmeda, con alto contenido de materia orgánica.

Se tomaron diez muestras simples al azar en movimientos en zigzag, se retiraron las muestras de los surcos a una profundidad de 20 cm dentro de la parcela cultivada, que representaron al suelo loma con historia de uso agrícola (suelo cultivado). Se obtuvo una muestra compuesta, ya que cada muestra simple fue el producto de varias extracciones aleatorias de submuestras que fueron reunidas, bien mezcladas y homogeneizadas. Cada muestra simple fue obtenida con el mismo

procedimiento, volumen y misma profundidad. Todas fueron tomadas en la profundidad del horizonte Ap, que corresponde al horizonte superficial del suelo. Para los análisis posteriores el suelo se secó al aire libre, se tamizó con tamiz de 2 mm de poro y se homogeneizó por cuarteo para luego retirar 1 kg de suelo que fue utilizado en los ensayos.

La caracterización comprende esencialmente medidas de pH, textura, materia orgánica, difracción de rayos X de la fracción mineral.

Los datos de textura y demás características de ambas muestras de suelo se obtuvieron consultando la página del Visor GeoINTA, 2019

2.1.1.1. Determinación de pH

Para determinar el pH de cada una de las muestras de suelo se aplica del método estándar (Grant, 1996), procediendo de la siguiente manera:

- 1- Se prepara una suspensión mezclando 10 g de suelo con 10 ml de agua, se agita y luego se deja reposar. A continuación, se mide el pH utilizando un pHmetro HANNA pHm 213.
- 2- Se repite la operación descrita en 1 utilizando una solución 0,01 M de CaCl_2 .
- 3- Nuevamente, con solución 1,0 M de KCl

2.1.1.2. Difractometría de Rayos X

La Difractometría de Rayos X de polvos se realizó en el DQIAQF-INQUIMAE donde se utilizó un difractómetro PANanalytical Empyrean. La radiación aplicada fue: Ánodo de Cu, ($K\alpha_1$) = 1.54056 Å), intervalo 10-60°paso de lectura 0.0262606°, N° de pasos 1904, Tipo de barrido: continuo, Tiempo por paso 197,627 seg. Máscara Incidente 15mm. Rendijas de 1-2-9.1mm.

2.1.2. Materia orgánica del suelo

El término “materia orgánica del suelo” hace referencia a todas las sustancias presentes en el mismo que contienen carbono orgánico. Como ya vimos en el Capítulo 1, la materia orgánica del suelo se puede dividir en dos grupos, en función de su estructura química: las sustancias no húmicas, que incluye los compuestos orgánicos pertenecientes a las clases químicamente conocidas (aminoácidos, carbohidratos, lípidos, etc.) y que no se encuentran únicamente en los suelos; y sustancias húmicas, que es la fracción cuantitativamente más importante.

Como ya vimos, las SH se clasifican generalmente en fracciones en términos de solubilidad:

1. Ácidos fúlvicos (AF): la fracción que es soluble en agua a cualquier valor de pH.
2. Ácidos húmicos (AH): la fracción que es soluble a $\text{pH} \geq 2$.
3. Humina: la fracción insoluble en agua a cualquier pH.

En este trabajo, se estudia la extracción, purificación y las propiedades resultantes de ácidos húmicos.

2.2. OBTENCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS

2.2.1. Introducción

Las muestras de Ácidos Húmicos (AH) pueden ser de diferentes tipos:

Muestra comercial: disponibles de distintas marcas (Sigma-Aldrich, Fluka, etc.) que se utilizan tal como son recibidas o pueden ser sometidas al último paso de extracción recomendado por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (International Humic Substances Society, IHSS) para su purificación.

Muestra estándar o de referencia: aportadas directamente por la IHSS, (como Leonardita, Elliot Soil, turba de Waskish, etc.)

Muestra extraída a partir de suelo: se realiza la extracción recomendada por la ISHH a partir de una muestra de suelo. Los AH analizados en el presente trabajo son de este tipo.

En el desarrollo de esta Tesis se utilizan seis muestras de ácido húmico obtenidas a partir de suelo. En la extracción alcalina a partir de una muestra de suelo, los minerales permanecen insolubles junto con la humina.

Se procede a extraer AH a partir de dos muestras diferentes de tierra, una proveniente de San Pedro (P) y la otra de Junín (J), ambas localidades de la provincia de Buenos Aires. En ambos casos, se extraen los AH mediante la aplicación de tres sistemas diferentes de purificación.

Los AH obtenidos por el método tradicional propuesto por la, IHSS se identifican con la letra B. Luego, en este método se reemplaza el tratamiento químico tradicional por un sistema de

purificación mecánico mediante la filtración con una membrana específica: estas fracciones se denominan con la letra A. Finalmente se separan AH sin purificar, que se designan con la letra X.

Estos AH se caracterizaron mediante Análisis Elemental, titulación ácido-base, titulación potenciométrica con Pb, Microscopía Electrónica de Barrido con Espectrómetro de Energía Dispersiva (SEM- EDS) y análisis por difracción de RX.

2.2.2. Método tradicional

El método propuesto por la IHSS consiste principalmente en una extracción ácido-base, y si bien no es el único procedimiento disponible, resulta útil por ser considerado un método estándar ampliamente aplicado. Este procedimiento, adaptado a las necesidades de esta investigación, se describe brevemente a continuación:

Retirar las raíces y tamizar la muestra de suelo seco a través de un tamiz de 2 milímetros. Pesar en función del volumen de solución que se va a preparar, en general, 100 g. Equilibrar la muestra a un valor de pH entre 1,0 y 2,0 con ácido clorhídrico (HCl) 1 M a temperatura ambiente. Ajustar el volumen de la solución con 0,1 M de HCl para proporcionar una concentración final que tenga una proporción de 10 ml de líquido/ 1 g de muestra seca (en base a la muestra original). Agitar la suspensión durante 1 hora y luego separar el sobrenadante del residuo por decantación después de dejar que la solución se asiente o por centrifugación a baja velocidad. Desechar el sobrenadante (ácidos fúlvicos AF)

Neutralizar el residuo del suelo con hidróxido de sodio (NaOH) 1 M hasta pH = 7,0, luego agregar NaOH 0,1 M bajo una atmósfera de nitrógeno (N₂) para obtener una relación final de extractante a suelo de 10: 1. Extraer la suspensión bajo N₂ con agitación intermitente durante un mínimo de 4 h. Permitir que la suspensión alcalina se asiente durante la noche y recoger el sobrenadante por medio de decantación o centrifugación. Descartar el residuo (minerales y humina)

En este punto se introducen las variantes para obtener las fracciones A (por filtrado con membrana) y B (por purificación mediante el método tradicional).

Para las fracciones B (continuando con el método tradicional):

Acidificar el sobrenadante con HCl 6 M con agitación constante hasta pH = 1,0 y luego dejar reposar la suspensión durante 12 a 16 h. Centrifugar para separar las fracciones de AH (precipitado) y AF. Descartar el sobrenadante.

Redissolver la fracción de ácido húmico agregando un volumen mínimo de KOH 0,1 M bajo N₂. Agregar cloruro de potasio (KCl) sólido hasta alcanzar una concentración de 0,3 M [K⁺] y luego centrifugar a alta velocidad para eliminar los sólidos suspendidos. Separar el residuo (AH gris). Reprecipitar el ácido húmico agregando HCl 6 M con agitación constante a pH= 1,0 y dejar reposar la suspensión durante 12 a 16 h. Centrifugar y desechar el sobrenadante.

Suspender el precipitado de ácido húmico en una solución de HCl 0,1 M/ HF 0,3 M (HF= ácido fluorhídrico) en un recipiente de plástico y agitar durante la noche a temperatura ambiente. Centrifugar y repetir el tratamiento con HCl/HF, si es necesario, hasta que el contenido de cenizas sea inferior al 1%. El tratamiento con HF/HCl se hizo una vez y se confirmó la eliminación de minerales a través de las medidas de DRX.

Transferir el precipitado a un tubo de diálisis suspendiendo con agua y dializar contra agua destilada hasta que el agua de diálisis dé una prueba de Cl negativa con nitrato de plata AgNO₃. Liofilizar el AH.

2.2.3. Filtrado por membrana

Se aplican los pasos propuestos por la ISHH para extraer AH hasta la obtención de la solución alcalina que se deposita durante la noche.

El extracto de NaOH se filtra a través de un filtro de membrana de polietersulfona de 0,22 micrómetros (Gelman Supor) bajo presión (gas nitrógeno). El extracto debe filtrarse dos veces a través de la misma membrana (la obstrucción parcial del filtro con la primera filtración ayuda a eliminar la arcilla fina y elimina la necesidad de los tratamientos con HCl/HF para reducir el contenido de cenizas).

Ahora se retoma el método original del ISHH:

Acidificar el filtrado con HCl 6 M con agitación constante a pH = 1,0 (precipitan HA) y luego dejar reposar la suspensión durante 12 a 16 h. Centrifugar para separar las fracciones de AH (precipitado) y AF (descartar sobrenadante).

Redissolver la fracción de AH agregando un mínimo volumen de KOH 0,1 M bajo N₂. Agregar KCl sólido para alcanzar una concentración de 0,3 M [K⁺] luego centrifugar a alta velocidad para eliminar los sólidos en suspensión. Separar el residuo (AH gris). Reprecipitar el ácido húmico (marrón) agregando HCl 6 M con agitación constante hasta pH= 1,0 y permitir que la suspensión permanezca de nuevo durante 12 a 16 h. Centrifugar, desechar el sobrenadante (minerales disueltos).

Transferir el precipitado a un tubo de diálisis haciendo una mezcla con agua y dializar contra agua destilada (membrana de celulosa Sigma-Aldrich 10 kDa) hasta que el agua de diálisis dé una prueba de Cl negativa con nitrato de plata AgNO_3 .

Por último, liofilizar los AH.

De la aplicación de estos sistemas de extracción y purificación, se obtienen seis fracciones de AH diferenciados, que son estudiados para su caracterización. Las fracciones obtenidas se resumen en la Tabla 2.1.

Denominación	Procedencia	Método de purificación
PA	San Pedro	Filtrado con membrana
PB	San Pedro	Tratamiento con HCl/ HF
PX	San Pedro	Sin purificar
JA	Junín	Filtrado con membrana
JB	Junín	Tratamiento con HCl/ HF
JX	Junín	Sin purificar

Tabla 2.1

2.2.4. Complicaciones en las técnicas de filtrado con membranas

La técnica de filtrado con membrana resulta complicada desde el punto de vista técnico debido a que los poros de la membrana utilizada son extremadamente pequeños y se reutiliza dos veces a fin de lograr un filtrado más exhaustivo, con el objetivo de retener la mayor parte de los minerales que acompañan la muestra de AH.

Para lograr completar este procedimiento, se realizó un filtrado previo con membranas OSMONIC de mayor tamaño de poro, comenzando por una membrana de teflón de 1,00 micrón luego se utiliza una membrana de 0,45 micrones, y finalmente se pasa a la membrana de polietersulfona de 0,22 micrones, bajo atmósfera de N_2 . Esta membrana se utiliza dos veces para cada muestra, de forma de optimizar el filtrado. Es una tarea engorrosa, complicada desde el punto de vista técnico. Requiere del montaje de un dispositivo capaz de soportar la presión de N_2 suficiente para completar el procedimiento. Se probaron diferentes montajes, el más eficiente consiste en una manguera (conectada directamente al tubo de N_2 y al portafiltro que soporta la membrana) que se va cargado con pequeños volúmenes de solución. El filtrado de una muestra de 50 ml puede demorar entre 6 y 8 hs.

2.3. CARACTERIZACIÓN DE AH

2.3.1. Análisis elemental

El Análisis Elemental de CHNS se realizó en un equipo Carlo Erba EA 1108, usando ácido sulfanílico como estándar y también como ensayo de control. Para el análisis se produce la combustión de la muestra en un tubo reactor donde es transformada a CO₂, H₂O, N₂ y SO₂. La separación de los gases se realiza por cromatografía gaseosa por columna de porapac de longitud variable y para la detección se utiliza un detector de conductividad térmica. El método requiere de una calibración previa con una sustancia patrón de composición conocida. Los datos de porcentaje de O se obtuvieron por diferencia.

2.3.2. Análisis por difracción de RX

Los resultados del análisis elemental se complementan con los obtenidos mediante análisis por difracción de RX, realizados como se detalló en 2.2.1.2

2.3.3. Microscopía electrónica de barrido con espectrómetro de energía dispersiva (SEM- EDS)

SEM (del inglés Scanning Electron Microscopy) utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen ampliada de la superficie de un objeto, permite una media y alta resolución de 1nm de magnificación (NovaNanoSEM200), se caracteriza por arrojar imágenes en escala tridimensional, formación de imágenes a partir de electrones secundarios (SEI- Secondary Electron Image) y a su vez transmite Rayos X (EDS o EDX Energy Disperse Spectrometer) debido al rebote del haz de electrones que llegan a la muestra. El SEM puede estar equipado con diversos detectores, entre los cuales se pueden mencionar: un detector de electrones retrodispersados que permite la obtención de imágenes de composición y topografía de la superficie BEI (Backscattered Electron Image), y un detector de energía dispersiva EDS (Energy Dispersive Spectrometer) permite coleccionar los rayos X generados por la muestra y realizar diversos análisis de imágenes de distribución de elementos en superficies pulidas, proporcionando información de la composición química de las partículas. Se utilizó un microscopio de barrido electrónico de emisión de campo FE SEM Carl Zeiss Supra 40 Gemini provisto con un detector de electrones secundarios dentro de la columna de electrones (InLens) y un detector de electrones

retrodispersados (QBSD). El primer detector ofrece imágenes de mayor resolución y es muy sensible a las características superficiales de las muestras, mientras que el segundo es apto para muestreos de contraste de composición. Entonces los materiales compuestos fueron analizados conjuntamente con el segundo detector para observar la posición de las partículas dentro de la matriz polimérica. La tensión aplicada para tomar imágenes con el detector InLens se ubicó en el rango 3-10 kV, en tanto que para el detector QBSD fue de 10 kV. Como resultado se obtuvieron micrografías con aumentos en el rango de 10kX y 50kX.

2.3.4. Titulaciones de AH con NaOH

Las titulaciones ácido-base a fuerza iónica $I = 0,01$ y $0,1M$ (2) fueron realizadas para las seis muestras de AH: PA, PB, PX, JA, JB y JX. En algunos casos, particularmente en PX y en JB, los resultados obtenidos se alejan de los esperados, a pesar de ser repetidos numerosas veces. También se observa tendencia a formar agregados por lo que no se puede prolongar la medición a $pH > 9,5$. Antes de realizar las titulaciones, las soluciones de estos AH fueron preparadas con anticipación y se las dejó estabilizar a $pH 3,5$ y burbujeo de N_2 .

Se aplica la Ecuación de Davies para determinar el coeficiente de actividad de H^+ :

$$\log \gamma_i = \frac{Az_i^2 \sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}}$$

donde γ_i es el coeficiente de actividad del ion i , $A = -0,51$, I es la fuerza iónica (M) y z_i es la carga del ion i . Se determina Q_H , que es la carga negativa del AH debido a la ionización, a partir de las concentraciones de H^+ , Na^+ y OH^- aplicando la condición de electroneutralidad (Ecuación 1.1).

2.4. INTERACCIÓN DE AH CON PLOMO

2.4.1. AGNES

AGNES es una técnica electroanalítica de redisolución anódica que se usa para determinar concentraciones de metales libres (no complejados), y por lo tanto es apta para el estudio de las interacciones de los AH con los metales.

Se procura cuantificar la concentración de iones metálicos libres en presencia de los HA mediante la utilización de AGNES, que permite la determinación directa del metal libre sin la necesidad de separación física, ya que no se ve obstaculizada por adsorción de MO en la superficie del electrodo, dando una detección límite en el rango nanomolar.

Se utiliza un electrodo de trabajo giratorio (RDE, provisto por BTZ, Brno, Rep. Checa) de carbono vítreo (GCE: Glassy Carbon Electrode de 3,2 mm de diámetro), el potenciostato Teq 4 (Nanoteq, Buenos Aires) con su programa de control, y soluciones de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ desde 10^{-3} a 10^{-9} M, a Temperatura constante= 25°C y bajo atmósfera de N_2 .

Se utilizó una configuración de tres electrodos que comprendía una película delgada de Hg depositada en el electrodo giratorio de carbono vítreo como electrodo de trabajo, y como referencia un electrodo de Ag/AgCl Radiometer. Un pHmetro HANNA modelo pHm 213 se utilizó para medir el pH de la muestra.

La solución inicial de Hg utilizada para formar la delgada película en el electrodo GCE es de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ de 350 ppm y se trabaja con un $\text{pH}=2,0$. Aplicamos la técnica de onda cuadrada, con un período de deposición y un período de rampa (barrido).

Para la determinación de Pb libre comenzamos con un blanco, agregamos solución de Pb de 1ppm, 10 ul en 5 ml de soporte de KNO_3 0,01M, obteniendo una concentración inicial de 2 ppb.

La técnica abarca el pretratamiento diario del electrodo de trabajo de carbono vidriado- pulido, sonicación y tratamiento electroquímico mediante voltametría cíclica- preparación de la película de mercurio y determinación de plomo libre. (Pinheiro 2018, Puy et al 2008, Galceran et al 2003)

2.4.1.1. Preparación de película de mercurio

Para realizar la deposición de película de mercurio sobre el electrodo de carbono vítreo se procede a la preparación de una solución de nitrato de mercurio (II) 0,24 mM.

Se deposita a -1,3 V rotando a 1000 rpm durante 420 s (40 nm). Después se puede seguir con un barrido de voltametría de onda cuadrada. Se enjuaga el electrodo con chorro suave de agua MilliQ desde atrás y se inserta en la celda con la solución de trabajo.

2.4.1.2. Determinación de plomo libre

Se hace un blanco y se calibra con agregados de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Se prepara solución de electrolito soporte: KNO_3 0,01 M. También soluciones de HNO_3 y NaOH 0,01 M para ajustar el pH.

Para Pb, se deposita a -0,48 V respecto de Ag/AgCl durante 540 s. Se rota a 1000 rpm hasta el fin del tiempo de espera. Todas las soluciones se purgan durante 15 minutos al comienzo de cada experimento y durante 20 s (asistido por agitación mecánica del electrodo giratorio, 1000 rpm) después de cada medida. Después se pasa a una corriente constante de $I = 2 \text{ uA}$ hasta que $E = -0.3 \text{ V}$ y se mide el tiempo transcurrido. La carga $Q = I \times t$ es proporcional a la concentración de Pb en la solución. En ausencia de Pb es la carga del blanco, que hay que restar de los experimentos. La corriente de 2 uA (micro A) es para un electrodo de 2 mm de diámetro.

Medidas de Pb con húmico: soluciones de 100 mg/L de húmico en KNO_3 0,01 M, con distintos agregados de Pb. Se deja equilibrar y se mide Pb libre con AGNES.

Después de todas las medidas, se determina el volumen de la capa de Hg depositada. Para eso se hace un barrido de potencial desde -0,15 V hasta +0,4 V a 5 mV/s y se mide la carga del pico de disolución del Hg depositado.

En la marcha de la experimentación modificamos repetidamente los parámetros y probamos diferentes secuencias. Se observa una marca en el anillo del electrodo de trabajo, por desgaste. Suponemos que el metal del electrodo está contaminando la muestra. Se hipotetiza sobre la posibilidad de enfundar el dispositivo para impedir que continúe la contaminación. Se intenta aplicar AGNES agitando en lugar de rotar. En ningún caso logramos mediciones con resultados confiables. Finalmente se decide cambiar la técnica AGNES por una titulación potenciométrica con plomo.

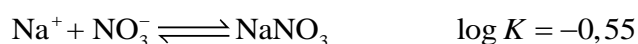
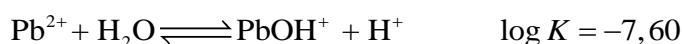
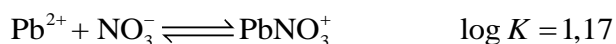
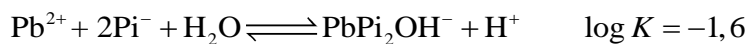
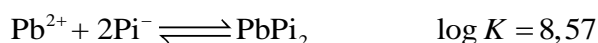
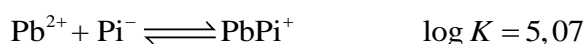
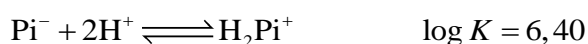
2.4.2. Titulaciones potenciométricas con plomo

Se utiliza un electrodo ion selectivo de sulfuro de plomo (PbS) Radiometer ISE25Pb, se mide el potencial de interfaz sensible al Pb^{2+} libre. Se usa una solución de una sal inerte (KNO_3 0,1M) para fijar la fuerza iónica. Se utiliza un electrodo de referencia de Ag/AgCl (KCl sat.). La relación entre la diferencia de potencial medida, E , y la actividad de Pb viene dada por la ecuación de Nernst:

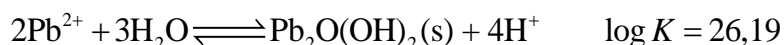
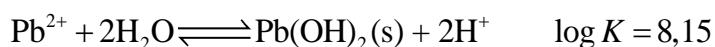
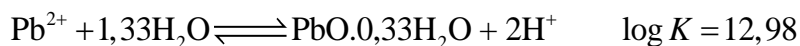
$$E = K + \beta \frac{0,059 \text{ V}}{2} \log a_{\text{Pb}}$$

Donde K es una constante que agrupa los potenciales estándar y de unión y otras constantes y β es un parámetro de no idealidad. En condiciones ideales, $\beta = 1$, pero en la práctica tanto este parámetro como K se determinan por calibración. En agua, el límite de detección de este tipo de

electrodos está limitada a alrededor de 10^{-6} a 10^{-7} M, debido a la disolución de cationes del electrodo. En presencia de complejantes (como el AH), sin embargo, el límite es más bajo debido al efecto regulador del complejante. Para calibrar el electrodo en condiciones similares al experimento, se tituló con Pb (II), preparada a partir de una solución estándar comercial de Pb (NO₃)₂, a una solución de ácido 2-picolínico (Figura 2.3), registrando para cada punto todos los agregados efectuados, el pH y E del electrodo de Pb. Con los datos de volúmenes agregados, se calcularon para cada punto las concentraciones analíticas de todos los componentes, y se realizó un cálculo de especiación utilizando el programa Visual Minteq 3.1 (<https://vminteq.lwr.kth.se/>). La especiación del Pb (II) queda definida por las siguientes reacciones principales (Pi⁻ representa el anión del ácido 2-picolínico):



Adicionalmente, el código considera las siguientes posibles reacciones de precipitación:



En todos estos casos se verifica que las soluciones están muy por debajo de la saturación, es decir que no se forma ningún sólido.

Como resultado, se obtuvieron las concentraciones y actividades de todas las especies, en particular Pb^{2+} libre, y finalmente se representó la diferencia de potencial medida E versus a_{Pb} libre (Figura 2.5).

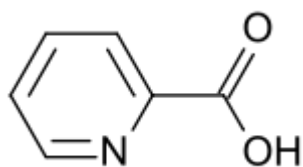


Figura 2.3: Ácido 2-picolínico

Se trabaja en la celda usada para las titulaciones ácido-base, con un pHmetro midiendo pH, otro midiendo voltaje (en milivolts) del ISE vs Ag/AgCl, un termostato a 25°C, agitador magnético y bajo atmósfera de N_2 (Figura 2.4).

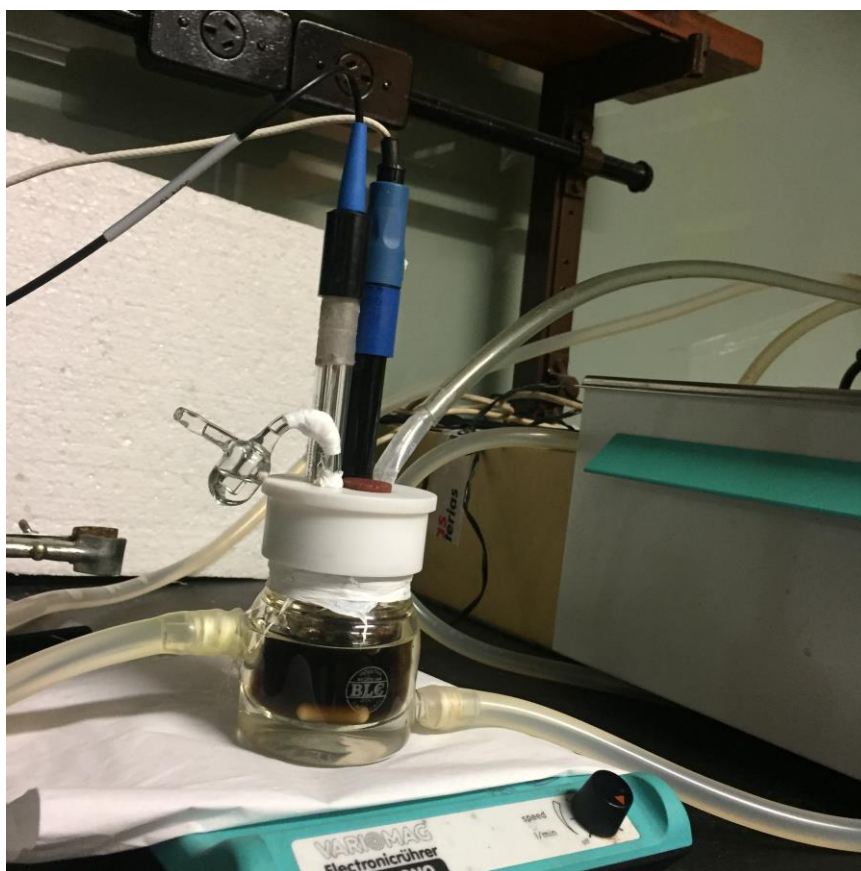


Figura 2.4: Dispositivo utilizado en la titulación potenciométrica con plomo

Se realiza la calibración del electrodo de Pb con ácido 2-picolínico, solución 0,01 M, que se lleva a pH = 5,0 con agregado de NaOH 0,001 M. En la titulación se parte agregando solución de Pb (NO₃)₂ 10⁻⁵ M, suficiente como para tener en la celda una concentración de Pb²⁺ del orden de 10⁻⁸ M. Se incrementa mediante agregados logarítmicos de la solución de Pb (en escala 10-30-100-300 ul) luego se hace lo mismo con solución 10⁻³ de Pb (NO₃)₂, finalmente con una solución 10⁻¹ M hasta que la concentración en la celda es del orden de 10⁻³ M.

Luego de haber calibrado el electrodo de Pb, se preparan tres soluciones de diferentes concentraciones de Pb (II) a pH 5,0. Con estas soluciones se chequea la calibración el electrodo de Pb antes de cada titulación potenciométrica de AH.

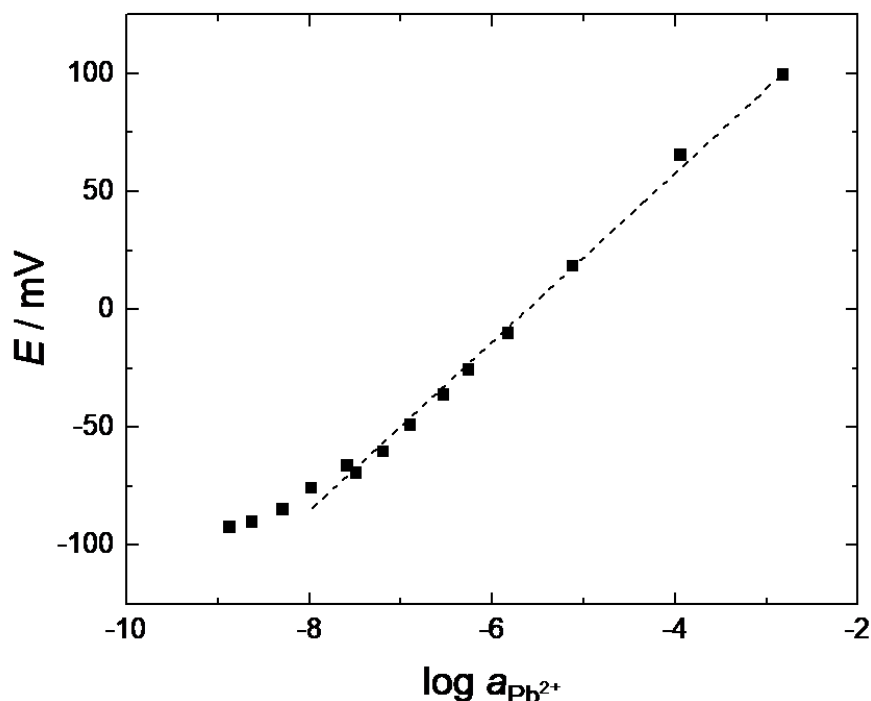


Figura 2.5 Calibración del electrodo de PbS con ácido 2-picolínico

La ecuación de la recta de calibración del electrodo de PbS con ácido 2-picolínico es:

$$E = 27,8 \text{ mV} \log a_{\text{pb}} + 155,4 \text{ mV}$$

con un R²= 0,9964, los cuales son valores esperables para este tipo de determinación; la pendiente de 27,8 mV es cercana al valor teórico Nernstiano de 29,6 mV. Previo a las titulaciones se chequeó la calibración con tres soluciones como se especificó antes; de estos chequeos surgieron en general correcciones mínimas (menores a 2 mV) de la pendiente.

Los resultados de las titulaciones de AH se analizaron en términos de la isoterma de Langmuir-Freundlich (ecuación 1.21). Esta ha sido la isoterma aplicada en el presente trabajo de investigación. Si bien representa un modelo relativamente sencillo, permite la comparación entre los AH obtenidos por diversos métodos de extracción y purificación, y ha sido extensamente utilizada en la literatura en esta temática.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. SUELO

3.1.1 Caracterización de las muestras de suelo

Como primera etapa del trabajo experimental se procedió a la obtención y caracterización de muestras de suelo de la pampa húmeda, con alto contenido de materia orgánica. La caracterización comprende esencialmente medidas de pH, textura, materia orgánica, difracción de rayos X de la fracción mineral.

Los resultados obtenidos en esta etapa son:

3.1.1.1. *pH del suelo*

Los resultados obtenidos en las determinaciones se vuelcan en la tabla 3.1

Muestra	Procedencia	Valor de pH medido al suspender el suelo en		
		Agua MilliQ	CaCl ₂	KCl
J	Junín	5,11	4,42	3,93
P	San Pedro	5,92	5,44	4,91

Tabla 3.1 Valores de pH de las muestras de suelo

Como es sabido, el pH medido depende del medio, observándose el más alto en agua y el más bajo en KCl 1,0 M. Se observa que son suelos moderadamente ácidos, típicos de zonas poco anegables (lomas) de la pampa húmeda. Los suelos en zonas altas están normalmente aireados y entonces hay acceso de CO₂ lo que confiere medio levemente ácido. Los suelos de zonas bajas se anegan con frecuencia, se alcalinizan, precipita CaCO₃ que luego, al retirarse el agua, confiere medio básico al disolverse.

3.1.1.2. *Textura*

Suelo de Junín:

Es un suelo profundo y oscuro con aptitud agrícola que se encuentra en un paisaje ondulado, ocupando los sitios de lomas de la Subregión Pampa Arenosa, bien a algo excesivamente drenado, relativamente joven con escaso desarrollo, habiendo evolucionado sobre un sedimento eólico franco arenoso, no alcalino, no salino con pendiente predominante de 0-1 % (hasta 3 % en pendientes muy cortas).

Clasificación Taxonómica: Hapludol Típico, Limosa gruesa; mixta, térmica (USDA- Soil Taxonomy V. 2006).

Descripción del perfil típico:

Profundidad de 0-16 cm; color: pardo muy oscuro (10YR* 2/2) en húmedo, pardo grisáceo a pardo grisáceo oscuro (10YR 4.5/2) en seco; clasificación: franco arenoso; bloques subangulares finos moderados que rompe a granular; friable; ligeramente plástico, no adhesivo; límite inferior abrupto, suave.

Suelo de San Pedro

Es un suelo oscuro y profundo, de aptitud agrícola, se encuentra en los llanos extendidos de la Región Pampa Ondulada alta, en lomas, moderadamente bien drenado, formado en sedimentos loésicos franco arcillo limosos del bonaerense superior, no alcalino, no salino, con pendientes de 0 a 0,5 %.

Clasificación Taxonómica: Argiudol Abrúptico, Fina, illítica, térmica (Soil Taxonomy 2006).

Descripción del perfil típico:

Profundidad: 0-14 cm; color: pardo grisáceo muy oscuro (10YR 3/2) en húmedo, pardo grisáceo (10YR 4,5/2) en seco*; clasificación: franco limoso; bloques subangulares medios moderados que rompe a granular; ligeramente plástico y adhesivo; raíces abundantes; límite abrupto suave.

Los principales datos analíticos de estos suelos se vuelcan en la tabla 3.2

Característica	Junín	San Pedro
Profundidad (cm)	0-16	0-14
Mat. orgánica (%)	1,98	3,20
Arcilla < 2 μ (%)	15,2	20,7
Limo 2-20 μ (%)	-	33,7
Limo 2-50 μ (%)	26,3	63,5
AMF 50-75 μ (%)	-	-
AMF 75-100 μ (%)	-	-
AMF 50-100 μ (%)	53,3	8,5
AF 100-250 μ (%)	5,2	0,6
AM 250-500 μ (%)	0,0	0,0
AG 500-1000 μ (%)	0,0	0,0
AMG 1-2 mm (%)	0,0	0,0

Tabla 3.2

*Notación de Munsell aplicada a la identificación de la coloración de los suelos. La notación de un color en el sistema de Munsell se escribe de la siguiente forma: Tono Valor/Saturación. Por ejemplo, el color especificado con 10YR 3/2 significa 10YR: el tono más alto del intermedio amarillo-rojo, valor 3 (más cerca del negro -0- que del blanco -10-), saturación 2 (un color muy poco saturado -0 corresponde a los colores neutros, las pinturas fluorescentes llegan a tener saturación 30-)

3.1.1.3. Difracción de rayos X

Las Figuras 3.1 y 3.2 muestran los diagramas de difracción de rayos X para ambos suelos. Se observan varios picos correspondientes a diversos minerales entre los cuales se destacan los correspondientes a cuarzo alrededor de $2\theta = 26^\circ$, como es habitual. Se observa un fondo poco definido debido a la presencia de materia orgánica amorfa. La sensibilidad de la técnica de difracción de rayos X aplicada es en torno al 0,5% para la mayor parte de las estructuras cristalinas.

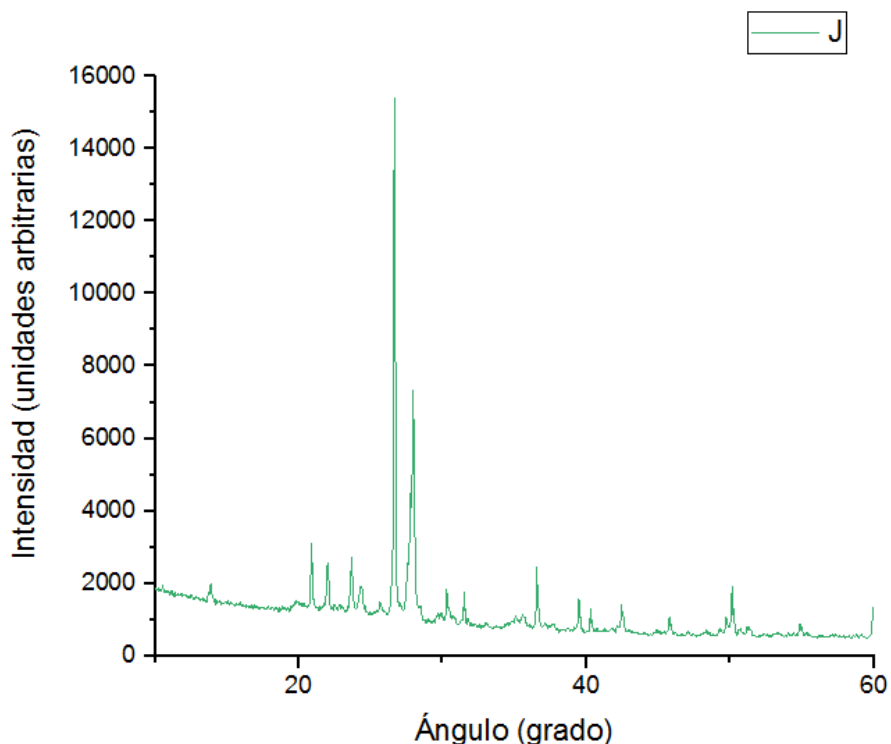


Figura 3.1- INQUIMAE, CONICET. Diagrama de DRX de Suelo de Junín.

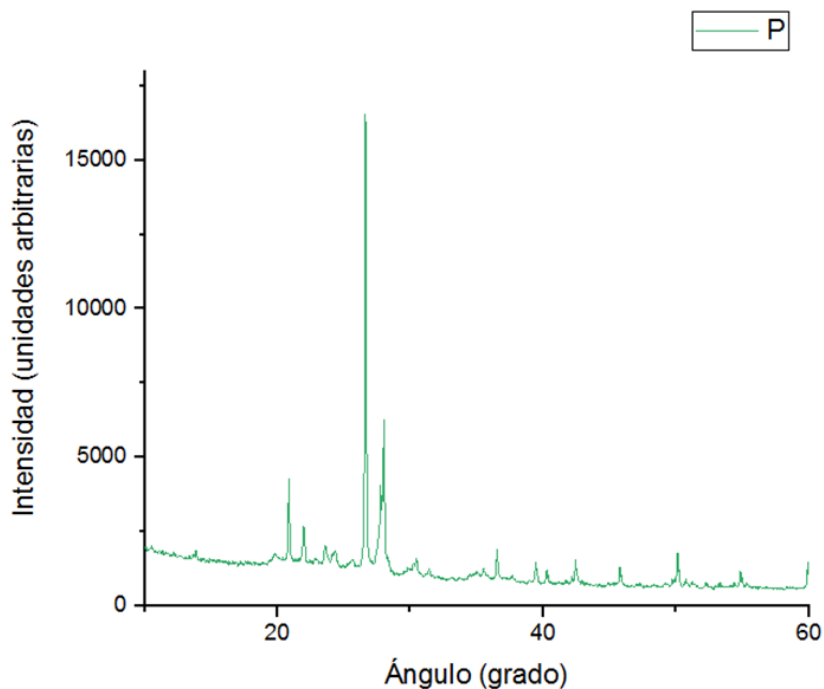


Figura 3.2 INQUIMAE, CONICET. Diagrama de DRX de Suelo de San Pedro.

3.2. OBTENCIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS

En el desarrollo de esta Tesis se utilizan seis muestras de ácido húmico obtenidas a partir de suelo. En la extracción alcalina a partir de una muestra de suelo, los minerales permanecen insolubles junto con la humina.

Se procede a extraer AH a partir de dos muestras diferentes de tierra, una proveniente de San Pedro (P) y la otra de Junín (J), ambas localidades de la provincia de Buenos Aires. En ambos casos, se extraen los AH mediante la aplicación de tres sistemas diferentes de purificación como se detalló en el Capítulo 2.

Los AH obtenidos por el método tradicional propuesto por la IHSS se identifican con la letra B. A continuación, en este método alternativo al tradicional, se reemplaza el tratamiento químico tradicional por un sistema de purificación mecánico mediante la filtración con una membrana específica: estas fracciones se denominan con la letra A. Finalmente se separan AH sin purificar, y se designan con la letra X. El aspecto de un AH típico obtenido puede verse en la Figura 3.3.

Estos AH se caracterizaron mediante Análisis Elemental, titulación potenciométrica ácido- base, Microscopía Electrónica de Barrido con Espectrómetro de Energía Dispersiva (SEM- EDS), análisis por difracción de RX.

De la aplicación de estos sistemas de extracción y purificación, se obtienen seis fracciones de AH diferenciados, que son estudiados para su caracterización. Las fracciones obtenidas se resumen en la Tabla 3.3

Denominación	Procedencia	Método de purificación
PA	San Pedro	Filtrado con membrana
PB	San Pedro	Tratamiento con HCl/ HF
PX	San Pedro	Sin purificar
JA	Junín	Filtrado con membrana
JB	Junín	Tratamiento con HCl/ HF
JX	Junín	Sin purificar

Tabla 3.3



Figura 3.3: Cristales de ácidos húmicos obtenidos a partir de suelo de San Pedro

3.3. CARACTERIZACIÓN DE AH

Los AH se caracterizaron mediante Análisis Elemental, análisis por difracción de RX, Microscopía Electrónica de Barrido con Espectrómetro de Energía Dispersiva (SEM- EDS), y titulación potenciométrica ácido- base.

3.3.1. Análisis elemental

Los resultados obtenidos en este análisis se vuelcan en la tabla 3.4

Resultados obtenidos:

MUESTRA	N (%)	C (%)	H (%)	S (%)	O (%)
JA	3,3	42,6	3,6	0,3	50,2
JB	4,0	50,5	4,0	0,2	41,3
JX	3,1	40,2	3,3	0,2	53,2
PA	3,1	37,6	3,3	0,2	55,8
PB	3,9	50,6	3,7	0,2	41,6
PX	2,8	33,9	3,0	0,2	60,1
Patrón de Ácido sulfanílico	8,09	41,61	4,07	18,56	
Ensayo de control de Ác. Sulfanílico	8,07	41,69	4,07	18,65	

Tabla 3.4 INQUIMAE, CONICET – Composición elemental de las muestras de ácidos húmicos sin purificar y purificadas. Las referencias están en la Tabla 3.3

La comparación de las características de las muestras provee información sobre el grado de humificación y aromaticidad del material, la cual parece estar directamente relacionada con la habilidad de estas sustancias para establecer uniones con metales. El análisis elemental de los HA del suelo purificados da un valor aproximado de 50-60% de C, 3-6% de H, 0,5-4% de N y 30-40% de O. En concordancia con otros estudios publicados (Botero, 2018) a pesar de que los AH purificados por el método tradicional de la IHSS está dentro de esos rangos, es claro que el obtenido de carbono de los AH purificados por filtrado con membrana están por debajo del 50% de C. Se observa que la relación C:O en los AH purificados por filtrado es similar a la de aquellos sin purificar. Si se considera que en esta etapa el contenido de minerales es a nivel de impurezas, es decir que luego de la purificación la relación C:O no debería cambiar mucho, parecen mejores los resultados obtenidos para la purificación por filtrado, mientras que en el caso del tratamiento con HCl/HF los resultados sugieren eliminación de O del AH.

3.3.2. Análisis por difracción de RX.

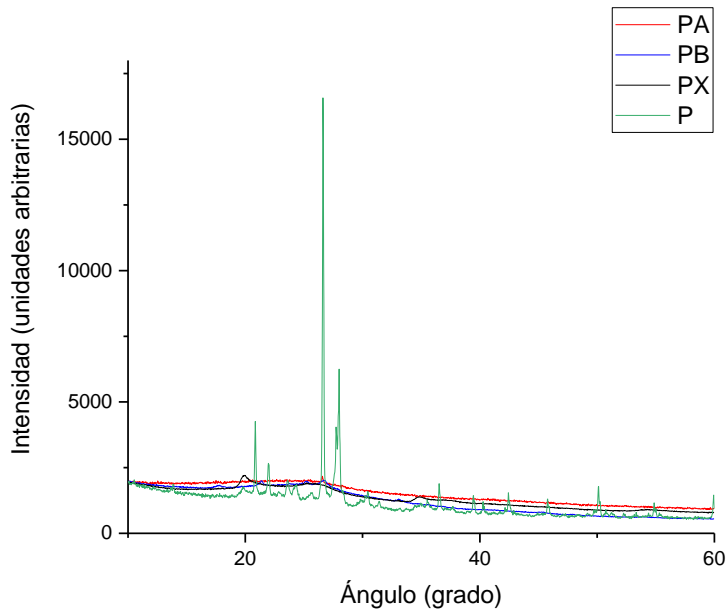


Fig 3.3: INQUIMAE, CONICET. Comparación de los diagramas DRX del suelo con los AH. P es la muestra de suelo de San Pedro, PA-PB-PX son los AH ya definidos.

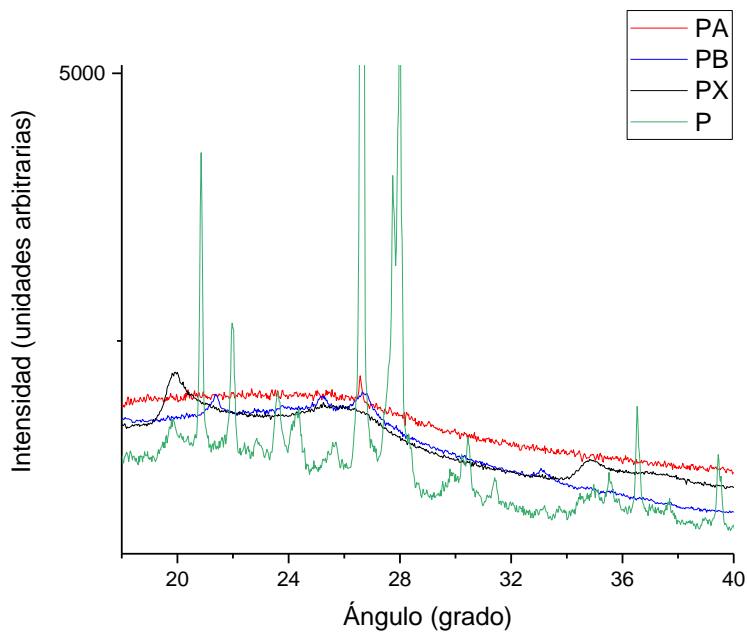


Fig 3.4: Comparación de los diagramas DRX del suelo de la Figura 3.3 con los AH para la muestra de San Pedro, expandida en el eje de las ordenadas. Se observa que la purificación con membrana (AH PA, rojo) ha sido eficiente ya que ha eliminado la mayoría de los minerales. Solo se encuentra un pequeño pico que corresponde al cuarzo, cerca de 27°.

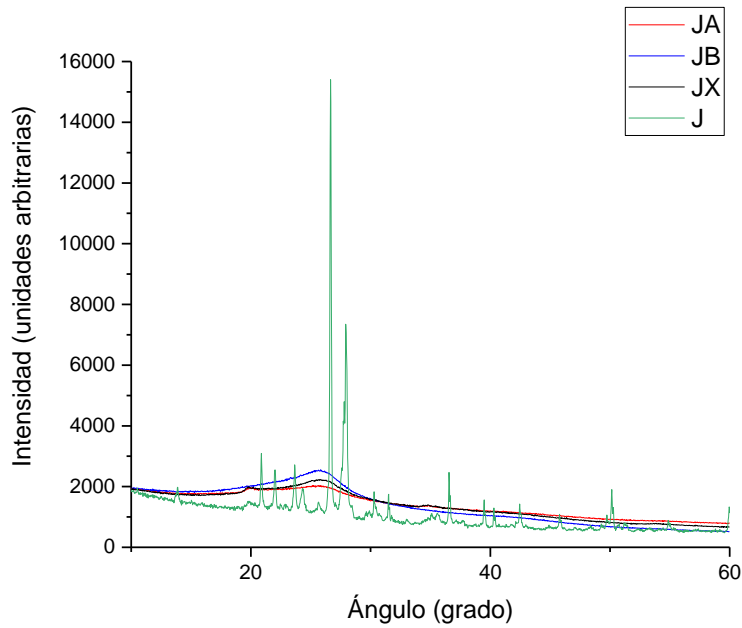


Fig 3.5: INQUIMAE, CONICET. Comparación de los diagramas DRX del suelo con los AH. J es la muestra de suelo de Junín, JA-JB-JX son los AH ya definidos.

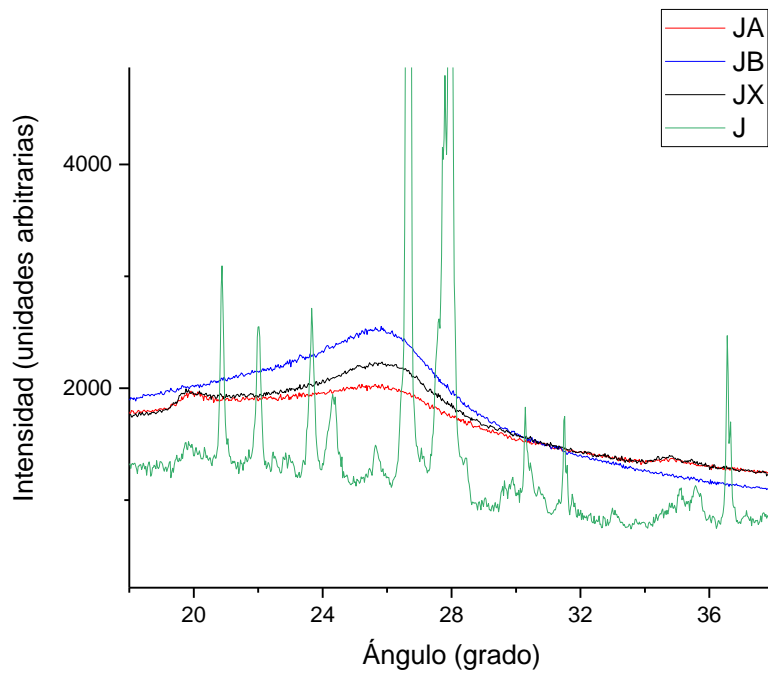


Fig 3.6: Comparación de los diagramas DRX del suelo de la Figura 3.5 con los AH para la muestra de Junín, expandida en el eje de las ordenadas. Se observa que el AH obtenido por filtración con membrana de polietersulfona de 0,2 micrones (JA, rojo) no presenta picos que demuestren presencia de minerales, por lo que la técnica de purificación se considera eficiente.

3.3.3. Microscopía electrónica de barrido con espectrómetro de energía dispersiva (SEM- EDS)

Los resultados obtenidos por la aplicación de esta técnica se muestran en las siguientes tablas y gráficos:

JA: AH extraído de suelo de Junín, purificado por filtración con membranas.

Element	Weight%	Atomic%
C K	61.01	68.79
O K	35.28	29.86
Na K	0.04	0.02
Mg K	0.03	0.02
Al K	0.30	0.15
Si K	0.51	0.25
P K	0.33	0.14
S K	0.28	0.12
Cl K	0.05	0.02
K K	0.85	0.29
Ca K	0.10	0.03
Fe K	1.13	0.28
Cu K	0.09	0.02
Totals	100.00	

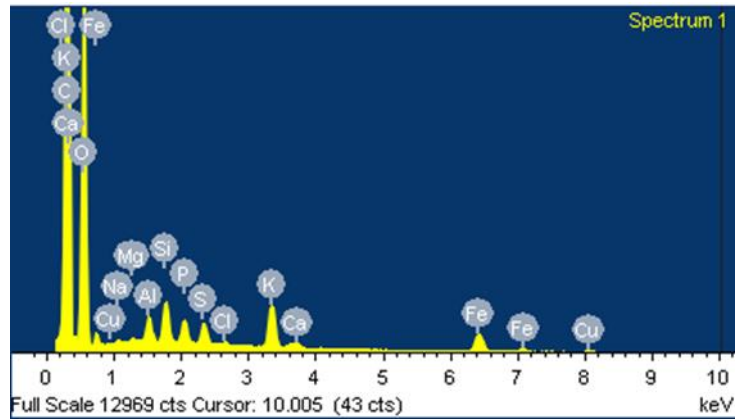


Tabla 3.5

Figura 3.7

JB: AH extraído de suelo de Junín, purificado por tratamiento con ácidos.

Element	Weight%	Atomic%
C K	64.80	71.06
N K	2.60	2.44
O K	31.88	26.25
Al K	0.04	0.02
P K	0.11	0.05
S K	0.16	0.07
K K	0.12	0.04
Ca K	0.06	0.02
Fe K	0.14	0.03
Cu K	0.08	0.02
Totals	100.00	

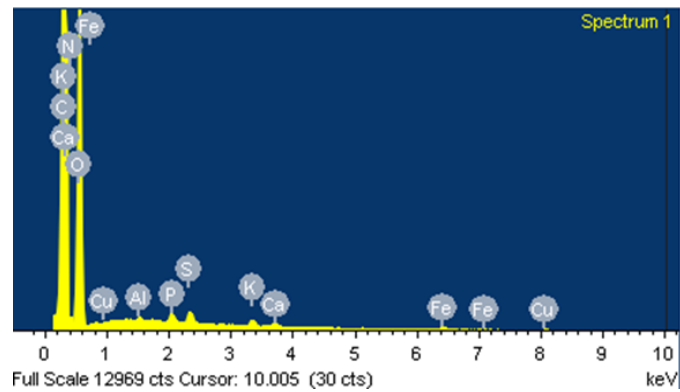


Tabla 3.6

Figura 3.8

JX: AH extraído de suelo de Junín, sin purificar.

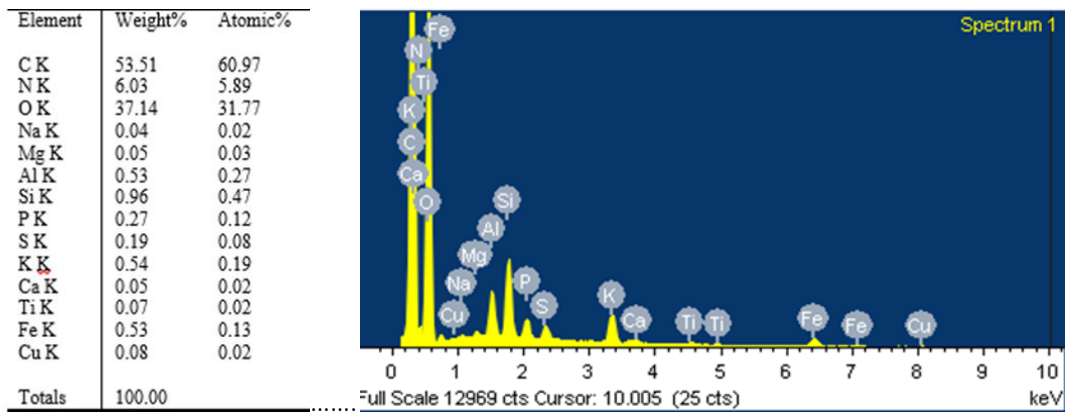


Tabla 3.7 Figura 3.9

La presencia de silicio y aluminio es notablemente menor en las muestras purificadas que en aquella sin purificar, lo que indica eficiencia de ambos métodos en este sentido, coincidentemente con el estudio por DRX.

PA: AH extraído de suelo de San Pedro, purificado por filtración con membranas.

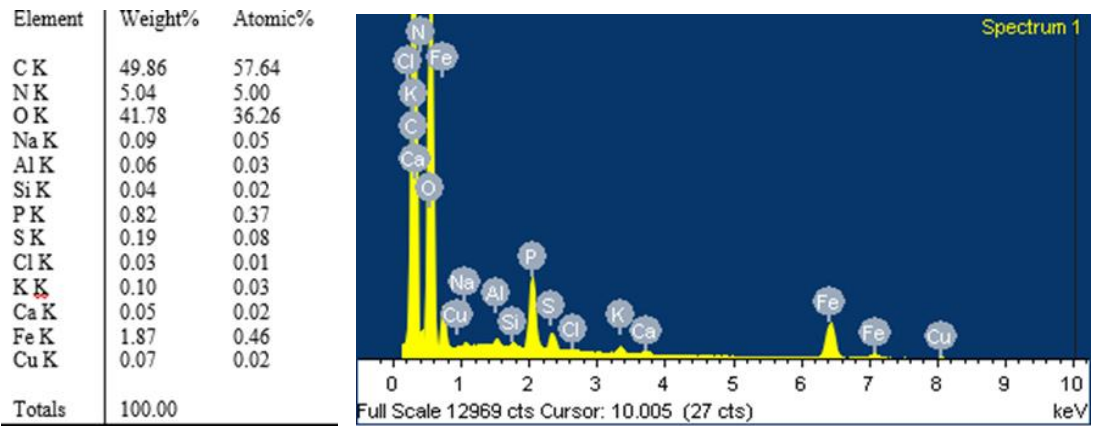


Tabla 3.8 Figura 3.10

PB: AH extraído de suelo de San Pedro, purificado por tratamiento con ácidos.

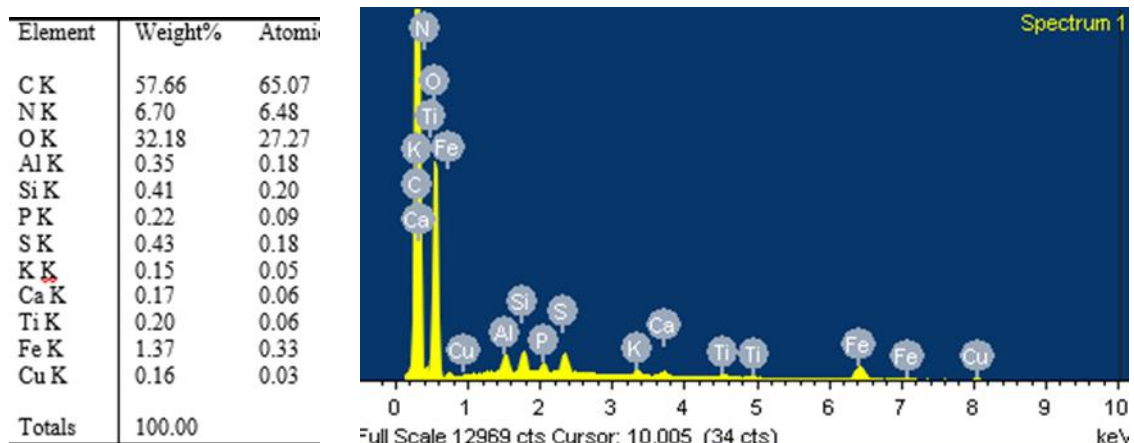


Tabla 3.9

Figura 3.11

PX: AH extraído de suelo de San Pedro, sin purificar.

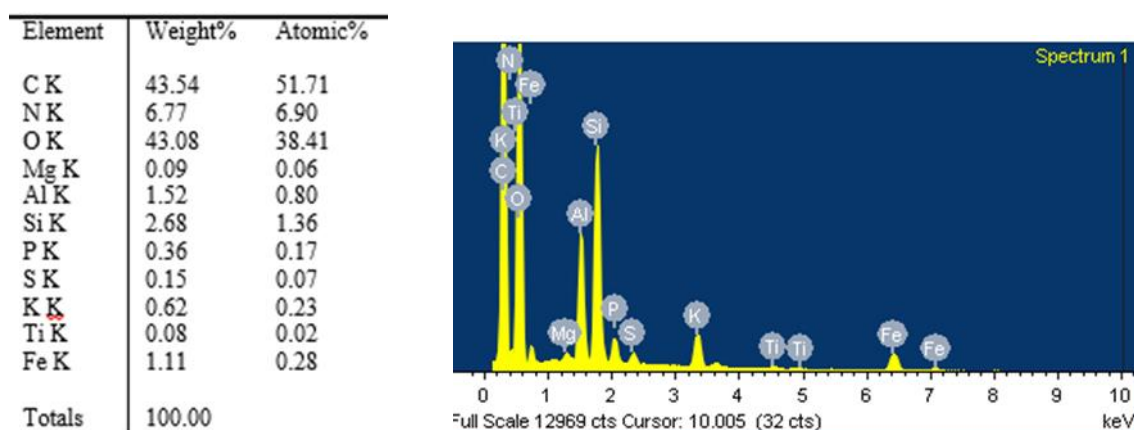


Tabla 3.10

Figura 3.12

Se observan resultados similares al caso del AH de Junín. En las muestras de AH obtenidos por purificación con el método tradicional y con membrana de observa menor contenido porcentual de minerales que en las muestras sin purificar. Este efecto se encuentra más acentuado en las muestras de AH de San Pedro. Se están observando elementos inorgánicos, o sea minerales. La composición de los minerales varía de un lugar a otro. Especialmente, se observa que la presencia de Silicio y de Aluminio es mucho mayor en las muestras sin purificar que en las muestras purificadas. Para las muestras de AH de Junín se midió un porcentaje atómico de Si del 0,25 % en la muestra purificada con membrana, de 0,0 % en la muestra purificada con HCl/ HF, y 0,47 %

en la muestra sin purificar. Para los AH procedentes del suelo de San Pedro, se midió un porcentaje atómico de Si del 0,02 % en la muestra purificada con membrana, de 0,20 % en la muestra purificada con HCl/ HF, y 1,36 % en la muestra sin purificar. En relación con el Aluminio para las muestras de AH de Junín se midió un porcentaje del 0,15 % en la muestra purificada con membrana, de 0,02 % en la muestra purificada con HCl/ HF, y 0,27 % en la muestra sin purificar. Para los AH procedentes del suelo de San Pedro, se midió un porcentaje atómico de Si del 0,03 % en la muestra purificada con membrana, de 0,18 % en la muestra purificada con HCl/ HF, y 0,80 % en la muestra sin purificar. Se analizan principalmente estos dos elementos ya que la mayoría de los minerales son silicatos y silicoaluminatos, además del cuarzo.

Si bien es más esperable que se obtengan menores restos minerales en el tratamiento con ácido porque a primera vista es más enérgico que la filtración, no hay ningún motivo que lo haga necesariamente así. En ambos casos quedan cantidades bajas.

Nuevamente, la técnica de purificación mediante filtración con membranas se considera eficiente para la eliminación de una alta cantidad de minerales de las muestras de AH.

3.3.3.1. Imágenes brindadas por el SEM

En relación con su morfología, se obtuvieron las imágenes que se presentan en la Figura 3.13. Macroscópicamente el aspecto morfológico es similar en todas las muestras. Se observa que todas las muestras son amorfas, lo que es esperable para la materia orgánica. Al considerar las imágenes obtenidas con el menor aumento, se distingue una mayor aglomeración en la muestra de AH de San Pedro sin purificar, lo cual es coherente dado que los minerales suelen provocar la formación de agregados en la MO. Esto también se verifica en la muestra de AH proveniente del suelo de Junín sin purificar, aunque es menos evidente, probablemente porque el contenido de minerales es mayor en la muestra proveniente de San Pedro.

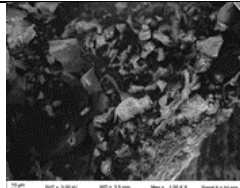
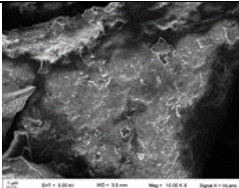
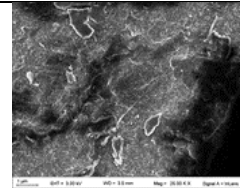
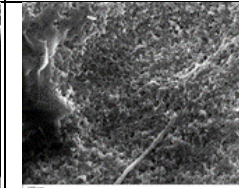
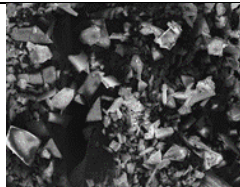
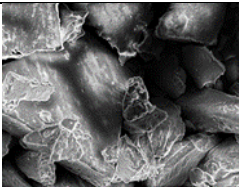
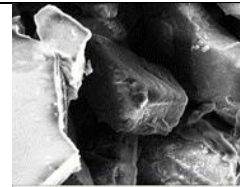
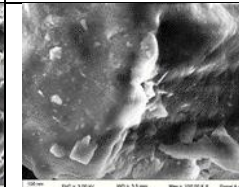
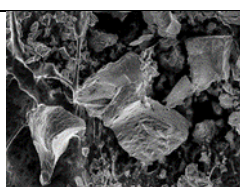
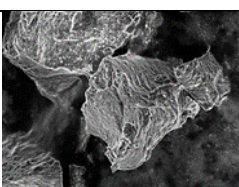
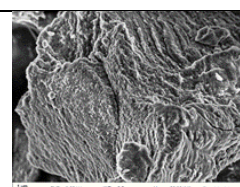
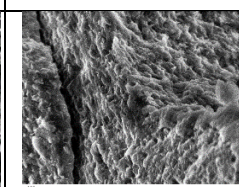
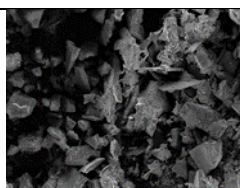
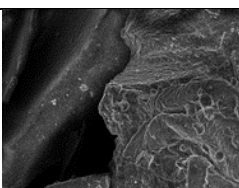
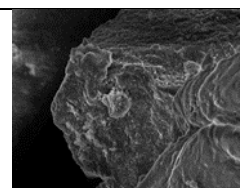
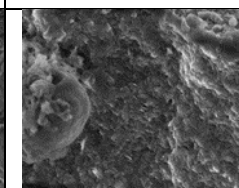
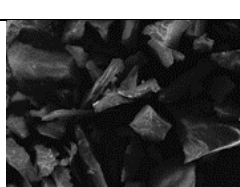
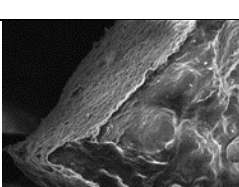
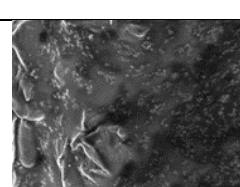
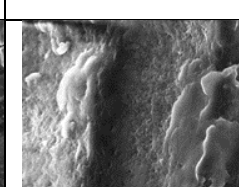
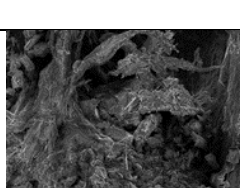
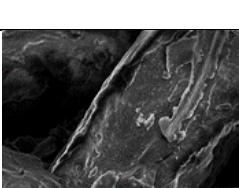
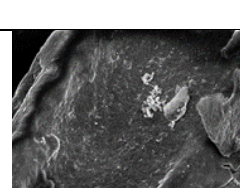
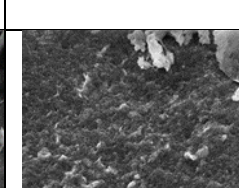
AH	Magnificación			
	1 K	10 K	25 K	100 K
PA				
PB				
PX				
JA				
JB				
JX				

Figura 3.13: Imágenes obtenidas en el SEM de los AH, purificados y sin purificar.

3.3.4. Titulaciones de AH con NaOH

En las Figuras 3.14 y 3.15, se representa la carga aniónica por disociación de H^+ , Q_H , en función del pH para muestras de los AH obtenidos con las distintas técnicas de purificación, a dos fuerzas iónicas diferentes. En todos los casos usamos soluciones de NaOH aproximadamente 0,1 M, preparadas y tituladas para cada nueva titulación de AH.

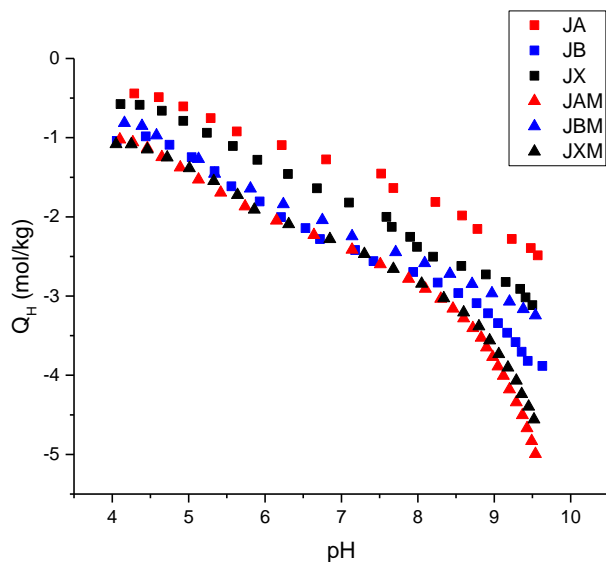


Figura 3.14: Curvas de carga aniónica específica en función del pH de los AH estudiados, procedentes del suelo de Junín. Referencias:

Denominación	Procedencia	Método de purificación	Fuerza iónica
JA	Junín	Filtrado con membrana	0,01 M
JB	Junín	Tratamiento químico HCl/ HF	0,01 M
JX	Junín	Sin purificar	0,01 M
JAM	Junín	Filtrado con membrana	0,1 M
JBM	Junín	Tratamiento químico HCl/ HF	0,1 M
JXM	Junín	Sin purificar	0,1 M

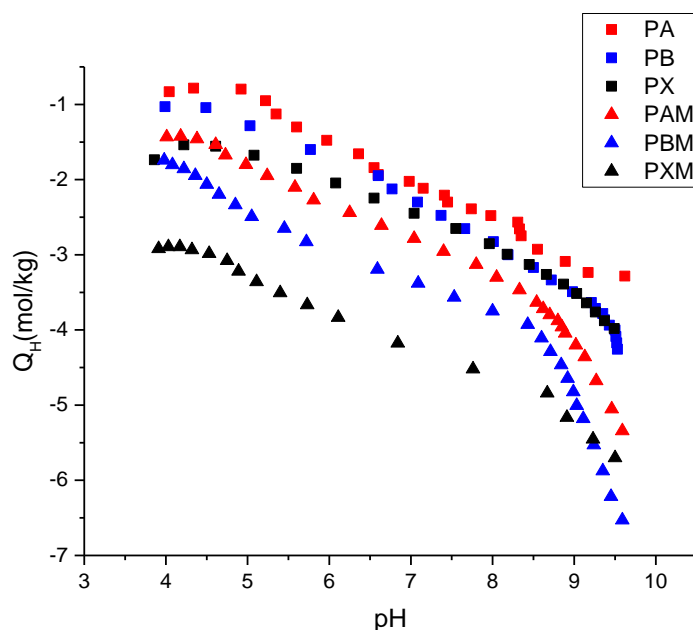


Figura 3.15: Curvas de carga aniónica específica en función del pH de los AH estudiados, procedentes del suelo de San Pedro. Referencias:

Denominación	Procedencia	Método de purificación	Fuerza iónica
PA	San Pedro	Filtrado con membrana	0,01 M
PB	San Pedro	Tratamiento químico HCl/ HF	0,01 M
PX	San Pedro	Sin purificar	0,01 M
PAM	San Pedro	Filtrado con membrana	0,1 M
PBM	San Pedro	Tratamiento químico HCl/ HF	0,1 M
PXM	San Pedro	Sin purificar	0,1 M

Los AH de Junín están menos disociados que los de San Pedro, lo cual sugiere un menor número de grupos funcionales ácidos, lo que es consistente con los resultados de análisis elemental, que muestran menor contenido de O para los AH de Junín. Alternativamente, podría pensarse en que los AH de Junín tengan grupos ácidos consistentemente más débiles, pero la diferencia en contenido de oxígeno lleva a preferir la explicación anterior.

En lo que sigue comparamos los resultados de los dos métodos de purificación entre sí; dado que las muestras sin purificar contienen minerales que presumiblemente se encuentran asociados con los AH, comparar muestras purificadas con aquellas sin purificar no es posible. Todos los AH obtenidos mediante filtración con membrana aparecen comparativamente menos disociados (carga menor en módulo) que los AH obtenidos por el método tradicional del ISSH; esto se

observa mayormente, como es de esperar, a menor fuerza iónica, ya que el aumento de esta lleva a un mayor apantallamiento de las interacciones electrostáticas y por lo tanto a una mayor disociación. Estas diferencias en el comportamiento de las muestras tratadas con distintos métodos de purificación son atribuibles a que, en las purificadas por filtración, las estructuras están más conservadas que en los AH que fueron sometidos a la agresión de los ácidos inorgánicos para la eliminación de minerales, lo que llevaría a reacciones no deseadas dando más grupos ionizables que en al AH original. Este aspecto requiere mucha más investigación para su esclarecimiento. Sin embargo, puede concluirse desde ya que existen diferencias en las propiedades ácido-base de sustancia húmicas empleando los métodos de purificación estudiados en este trabajo.

3.4. INTERACCIÓN DE AH CON PLOMO

3.4.1. AGNES

Como ya se explicó en el Capítulo 2, se realizaron varios ensayos infructuosos. En ningún caso logramos mediciones con resultados confiables. Finalmente se decide cambiar la técnica AGNES por una titulación potenciométrica con plomo.

3.4.2. Titulaciones potenciométricas con plomo

En las Figuras 3.17 y 3.18 se representa

- 1- Símbolos: la cantidad de Pb unido o adsorbido, Q_{Pb} , en función del logaritmo de la actividad del Pb.
- 2- Líneas: Ajuste de datos a la isoterma de Langmuir-Freundlich (ecuación 1.21). Esta ha sido la isoterma aplicada en el presente trabajo de investigación. Si bien representa un modelo relativamente sencillo, permite la comparación entre los AH obtenidos por diversos métodos de extracción y purificación, y ha sido extensamente utilizada en la literatura en esta temática:

$$Q_{Pb} = Q_{Pb,max} \frac{(K_m a)^n}{1 + (K_m a)^n}$$

Donde Q_{Pb} : cantidad de Pb adsorbido; $Q_{Pb,max}$: máxima cantidad de Pb adsorbido. K_m : valor medio de la distribución de constantes de adsorción, n , parámetro de heterogeneidad (ver Figura 1.19) a : actividad del adsorbato. En las Tablas 3.11 y 3.12 se resumen los parámetros de la isoterma de Langmuir-Freundlich obtenidos del ajuste.

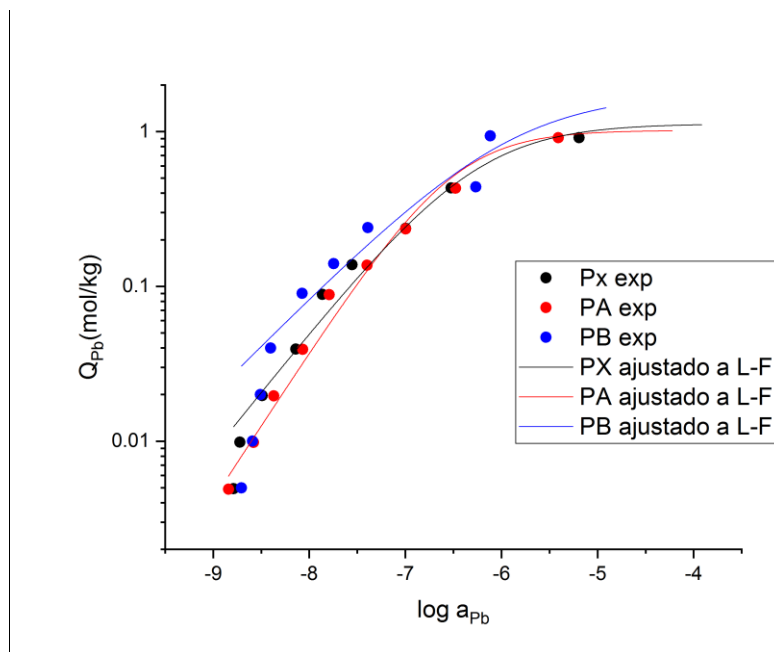


Figura 3.16, Cantidad de Pb ligado en función del logaritmo de la actividad del Pb para AH extraídos del suelo de San Pedro, a pH = 5,0. Símbolos: datos experimentales; líneas: ajuste de los resultados a la isoterma de Langmuir-Freundlich.

AH	$Q_{Pb,max}$ (mol kg ⁻¹)	N	log K
PX	1,14	0,78	6,23
PA	1,2	0,95	6,16
PB	1,78	0,6	5,91

Tabla 3.11 Parámetros resultantes del ajuste para el suelo de San Pedro.

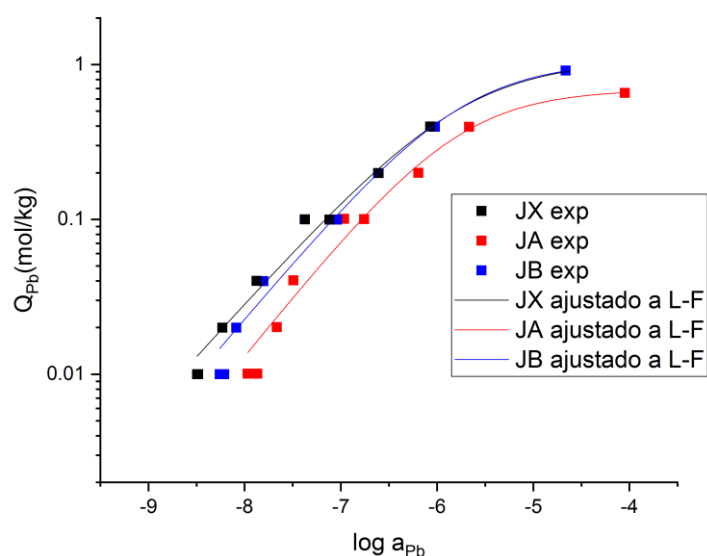


Figura 3.17 Cantidad de Pb ligado en función del logaritmo de la actividad del Pb para AH extraídos del suelo de Junín, a pH = 5,0. Símbolos: datos experimentales; líneas: ajuste de los resultados a la isoterma de Langmuir-Freundlich.

AH	$Q_{Pb,max}$ (mol kg ⁻¹)	n	log K
JX	1,06	0,69	5,74
JA	0,69	0,78	5,79
JB	1,06	0,74	5,74

Tabla 3.12 Parámetros resultantes del ajuste para el suelo de Junín.

3.4.3. Análisis de los resultados:

En la reacción de los AH con Pb se observa para los AH de San Pedro obtenidos por el método tradicional una curva más alta que significa una mayor capacidad de complejar al Pb, mientras que las curvas son más parecidas comparando el AH purificado con membrana y aquel sin purificar. En los AH de Junín también se observa mayor capacidad de complejar el Pb para los AH obtenidos por el método tradicional, pero hay gran similitud entre éstos y la muestra sin purificar mientras que el purificado por membrana muestra menor capacidad. Como se dijo anteriormente, los AH sin purificar contienen minerales que presumiblemente son distintos, de manera que la comparación de los AH sin purificar no resulta significativa. Se observa que en

todas las muestras los AH de Junín retienen menos Pb que los AH de San Pedro, lo que es consistente con lo observado en las titulaciones ácido-base.

En los AH de Junín las impurezas parecen afectar menos la interacción con Pb que en los AH de San Pedro. En ambos casos, los AH purificados con membrana complejan menos Pb que los AH purificados con el método tradicional.

En síntesis, se observa una correlación entre la disociación de protones y la capacidad de formar complejos con Pb (II). La disociación es mayor en los AH provenientes de San Pedro que en los de Junín, y también su capacidad de formar complejos, correlación que es esperable ya que es necesaria la disociación de los protones para formar complejos con el Pb (II).

Del mismo modo, hay mayor disociación en los AH purificados por el método tradicional que en los purificados por filtración con membrana. También, hay una mayor tendencia a formar complejos en los AH purificados por el método tradicional que los obtenidos por filtración con membrana y mucho mayor que en los AH sin purificar.

Pasando a un análisis más cuantitativo, los datos experimentales de interacción AH-Pb(II) se ajustaron a la isoterma de Langmuir-Freundlich (LF) (Sips 1948, Molina 2014). En la literatura se han desarrollado y aplicado modelos más completos y elaborados para sistematizar el estudio del enlace de cationes a sustancias húmicas, principalmente el modelo WHAM de Tipping y colaboradores (Tipping 2002) y el modelo NICA-Donnan de la escuela de Wageningen (Kinniburgh 1999). Estos modelos consideran por una parte la interacción específica (enlace o complejación) y por otra la interacción electrostática inespecífica. Esta última es relevante en situaciones de fuerza iónica variable, lo que no ocurre en este estudio, por lo que no se la tiene en cuenta. En la complejación específica, usualmente se consideran dos tipos de sitios: carboxílicos y fenólicos, que pueden complejar cationes metálicos. Sin embargo, en el caso del Pb (II), no se espera que se enlacen apreciablemente a grupos fenólicos aislados (Orsetti 2010, Montenegro 2014), mientras que es bien conocida la capacidad del Pb(II) de formar complejos con grupos carboxílicos. Por lo tanto, y con el objeto de realizar comparaciones entre las distintas muestras de una manera simplificada, se adoptó la isoterma LF, que ha sido extensamente utilizada en la literatura en esta temática.

Analizando los resultados para el suelo de San Pedro (Tabla 3.11) se observa que la principal diferencia consiste en una capacidad ($Q_{Pb, max}$) considerablemente mayor para los AH obtenidos por el método tradicional indicando mayor número de sitios disponibles, comparada con el AH sin purificar y purificado por membrana, que resultan similares. Por otra parte, el valor de n es menor para PB, lo que indica una distribución de sitios más ancha. Finalmente, los valores de las

constantes K_m son similares, por lo que no aparecen diferencias en la afinidad por el Pb (II). El mayor número de sitios podría deberse a que, al destruir partículas minerales que estuvieran unidas a los AH, éstos vieran liberados grupos que estaban unidos al mineral, en cuyo caso esta purificación resultaría más favorable. Por otro lado, también puede ser atribuible a que el tratamiento fuertemente ácido produzca cambios estructurales en las moléculas de AH, por ejemplo, hidrolizando grupos éster, con lo que el aumento de sitios sería un artefacto no representativo del AH en el suelo. Dado que la mayor parte de la fracción mineral es eliminada en la primera extracción, no es de esperar una gran cantidad de partículas extraídas en la etapa de purificación, por lo que la segunda explicación parece más probable. Con respecto al menor valor de n para PB comparado con los otros casos, este valor indica una distribución más ancha, es decir un mayor rango de valores de $\log K$, lo cual sería consistente también con la hipótesis de alteración del AH por el tratamiento con HF/HCl.

Yendo al caso del AH de Junín, se observa como antes que los valores de K son coincidentes, y también que los valores de n no difieren mucho, mientras que vuelven a presentarse diferencias importantes en la capacidad. En este caso, la capacidad del AH purificado por el método tradicional (JB) también es considerablemente mayor que el purificado por membrana (JA) pero aquí el primero coincide con el valor para el AH sin purificar. La diferencia entre JA y JB es consistente con lo observado en el caso de San Pedro; el caso de JX, como ya se dijo, como está impurificado no puede tomarse como punto de comparación. Una explicación tentativa para las diferencias entre PX y JX podría ser que el AH de Junín (a diferencia del de San Pedro), incluya un número de moléculas orgánicas más pequeñas que sean eliminadas en la etapa de diálisis.

Lo que surge claramente del análisis es que los métodos de purificación empleados aquí llevan a diferencias cuantitativas en la capacidad de complejación, y por ende de retención, de un metal contaminante muy riesgoso para la salud como es el plomo, aunque el comportamiento cualitativamente sea el mismo. Este resultado es en general consistente con los obtenidos por Botero y col. (Botero 2018). Desde el punto de vista ambiental, esta conclusión arroja dudas acerca de si los AH extraídos y purificados según el método tradicional de la IHSS son suficientemente representativos de la materia orgánica del suelo, aunque como ya se dijo desde un punto de vista cualitativo dé resultados razonables y se hayan podido obtener resultados significativos en algunos casos (Olk, D.C., Bloom, P.R., Nobili, M.D., Chen, y., McKnight, D.M., Wells, M.J.M., Weber, J., 2019). Resulta también en consecuencia que se requieren mayores investigaciones para clarificar este punto y avanzar en la resolución del debate sobre la representatividad de las SH.

3.5. CONCLUSIONES:

- La técnica de purificación de AH mediante filtración con membranas demuestra ser eficiente para eliminar en los AH de la mayoría de las impurezas minerales, como se desprende de los análisis por DRX y SEM-EDS.
- En la interacción ácido-base, especialmente para el AH de San Pedro, se observa una mayor disociación a igual pH para la purificación por HCl/HF, comparada con la purificación por filtración, atribuible a reacciones de hidrólisis en el primer caso, que lleva a la aparición de más grupos ionizables.
- El método de purificación evidentemente influye en el comportamiento de los AH frente al Pb, particularmente en la capacidad de enlazado ($Q_{Pb,max}$), que se observa mayor para la purificación tradicional.
- La filtración con membrana para purificar los AH es un método menos agresivo que el tradicional tratamiento químico con ácidos, por lo que se espera que altere menos la estructura de los AH y los resultados obtenidos resulten más confiables.
- Como perspectiva, se hacen necesarias investigaciones más amplias y profundas para dilucidar tanto los aspectos fundamentales de los métodos de extracción de sustancias húmicas como la representatividad de los productos obtenidos desde el punto de vista ambiental.

Referencias bibliográficas

- Adamson, Arthur W., and Alice P. Gast. 1997. *Physical Chemistry of Surfaces*. 6^o ed. Wiley-Interscience, August 4.
- Adriano, D. C., 2001. *Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals*, 2nd ed. Springer, New York, NY, USA.
- Aharonson, Nadav, and Uzi Kafkafi. 1975. Adsorption of benzimidazole fungicides on montmorillonite and kaolinite clay surfaces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23, no. 3 (May 1): 434-437. doi:10.1021/jf60199a069.
- Alloway, B.J., 2013. Heavy metals and metalloids as micronutrients for plants and animals, en Alloway, B.J. (Ed.), *Heavy metals in soils*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 195-210.
- Alvarez-Puebla, R.A., and J.J. Garrido. 2005. Effect of pH on the aggregation of a gray humic acid in colloidal and solid states. *Chemosphere* 59, no. 5 (April): 659–667. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.10.021.
- Aranovich, Grigori L., and Marc D. Donohue. 1996. Universal Singularities of Multilayer Adsorption Isotherms and Determination of Surface Area of Adsorbents. *Journal of Colloid and Interface Science* 181, no. 1 (July 15): 313-318. doi:10.1006/jcis.1996.0383.
- Arrouays, D., M. Mench, A. Gomez, y V. Amans. 1996. Short-range variability of fallout Pb in a contaminated soil. *Canadian Journal of Soil Science* 76 (1): 73-81. Doi: 10.4141/cjss96-011.
- Atkins, Peter, and Julio de Paula. 2009. *Physical Chemistry*. 9^o ed. New York: W. H. Freeman, December 18.
- Avgul, N. N., and A. V. Kiselev. 1958. Energy of adsorption forces and heat of adsorption of simple molecules on graphite. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR Division of Chemical Science* 6, no. 2: 241-243. doi: 10.1007/BF01170560.
- Baigorri, Roberto, Marta Fuentes, Gustavo González-Gaitano, José M. García-Mina, Gonzalo Almendros, and Francisco J. González-Vila. 2009. Complementary Multianalytical Approach to Study the Distinctive Structural Features of the Main Humic Fractions in Solution: Gray Humic Acid, Brown Humic Acid, and Fulvic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, no. 8 (April 22): 3266–3272. Doi: 10.1021/jf8035353.
- Baldock, J. A., and P. N. Nelson. 1999. Soil Organic Matter. In *Handbook of Soil Science*, B75–B84. 1st ed. Boca Raton, FL, USA: M. L. Sumner, ed.; CRC, August 31.

- Balnois, E., K. J. Wilkinson, J. R. Lead, and J. Buffle. 1999. Atomic force microscopy of humic substances: effects of pH and ionic strength. *Environmental Science and Technology* 33, no. 21: 3911–3917.
- Bellamy, L. J. 1975. The infra-red spectra of complex molecules. 3rd ed. Wiley.
- Bellon-Maurel, Véronique, and Alex McBratney. 2011. Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils - Critical review and research perspectives. *Soil Biology and Biochemistry* 43, no. 7 (July): 1398–1410. Doi: 16/j.soilbio.2011.02.019.
- van den Berg, C., and S. Bruin. 1981. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In *Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects*, ed. L. B. Rockland and G. F. Stewards, 1-61. New York: Academic Press.
- Berry, R. Stephen, Stuart A. Rice, and John Ross. 2000. *Physical Chemistry*. 2^o ed. Oxford University Press, USA, March 30.
- Bloom, Paul R., William F. Bleam, and Kang Xia. 2001. X-Ray Spectroscopy Applications for the Study of Humic Substances. In *Humic Substances and Chemical Contaminants*, ed. C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi, P. R. Bloom, and P. M. Jardine, 317–350. Madison, WI: Soil Science Society of America, January 1.
- BOE, 2005. Real Decreto 824, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes. BOE 171. España.
- Botero, Wander G., Michael Pineau, Noémie Janot, Rute F. Domingos, José Mariano, Luciana S. Rocha, Jan E. Groenenberg, Marc F. Benedetti y José P. Pinheiro, 2018. Isolation and purification treatments change the metal-binding properties of humic acids: effect of HF/HCl treatment. *Environ Chem.* 2018, 14, 417–424
<https://doi.org/10.1071/EN17129>
- Brito, V., and M. Ralek. 1978. Calorimetric determination of the heat of adsorption of nitrogen on a technical iron catalyst for ammonia synthesis at 400°C. *Reaction Kinetics and Catalysis Letters* 9, no. 1 (3): 15-21. doi: 10.1007/BF02070362.
- Buffle, Jacques. 1988. *Complexation reactions in aquatic systems: and Analytical Approach*. Chichester, UK: Ellis Horwood.
- Clapp, C. E., and M. H. B. Hayes. 1999. Characterization of humic substances isolated from clay- and silt-sized fractions of a corn residue-amended agriculture soil. *Soil Science* 164, no. 12: 899–913.

- Clapp, C. E., M.H.B. Hayes, A. J. Simpson, and W. L. Kingery. 2005. Chemistry of soil organic matter. In *Chemical Processes in Soils*, ed. M. Ali Tabatabai and Donald L. Sparks, 1–150. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America.
- Companys, Encarnació, Jaume Puy and Josep Galceran, 2007. - Humic acid complexation to Zn and Cd determined with the new electroanalytical technique AGNES. *Environ. Chem.* 4, 347–354. Doi: 10.1071/EN07051

www.publish.csiro.au/journals/env.

- Davies, Geoffrey, Elham A. Ghabbour, Aleksandr Cherkasskiy, and Amjad Fataftah. 2001. Tight Metal Binding by Solid Phase Peat and Soil Humic Acids. In *Humic Substances and Chemical Contaminants*, ed. C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi, P. R. Bloom, and P. M. Jardine, 371–395. Madison, WI: Soil Science Society of America, January 1.
- De La Rosa, G., Peralta-Videa, J.R., Parsons, J.G., Gardea-Torresdey, J.L., 2005. Using X-ray absorption spectroscopy to study the speciation and coordination of lead binding to humic materials. *Spectroscopy* 20, 24–30.
- Delahay, Paul. 1965. *Double layer and electrode kinetics*. New York: Interscience Publishers.
- Dixit, Suvasis, and Janet G. Hering. 2003. Comparison of Arsenic(V) and Arsenic (III) Sorption onto Iron Oxide Minerals: Implications for Arsenic Mobility. *Environmental Science & Technology* 37, no. 18: 4182-4189. doi: 10.1021/es030309t.
- Donohue, Marc D., and Grigoriy L. Aranovich. 1998. Classification of Gibbs adsorption isotherms. *Advances in Colloid and Interface Science* 76-77 (July 1): 137-152. doi: 10.1016/S0001-8686(98)00044-X.
- Duval, J. F. L., K. J. Wilkinson, H. P. Van Leeuwen, and J. Buffle. 2005. Humic substances are soft and permeable: evidence from their electrophoretic mobilities. *Environ. Sci. Technol* 39, no. 17: 6435-6445.
- Elliot, H.A., Huang, C.P., 1981. Adsorption characteristics of some Cu (II) complexes on aluminosilicates. *Water Res.* 15, 849-855.
- Emmett, P. H., and Stephen Brunauer. 1934. The Adsorption of Nitrogen by Iron Synthetic Ammonia Catalysts. *Journal of the American Chemical Society* 56, no. 1 (January 1): 35-41. Doi: 10.1021/ja01316a011.
- Engebretson, Reginald R., and Ray von Wandruszka. 1998. Kinetic Aspects of Cation-Enhanced Aggregation in Aqueous Humic Acids. *Environmental Science & Technology* 32, no. 4 (February 1): 488–493. Doi: 10.1021/es970693s.

- Farmer, J. G., A. B. Mackenzie, C. L. Sugden, P. J. Edgar, y L. J. Eades. 1997. A Comparison of the Historical Lead Pollution Records in Peat and Freshwater Lake Sediments from Central Scotland. *Water, Air, and Soil Pollution* 100 (3-4): 253-70. Doi: 10.1023/A:1018320425006.
- Ferreyra, Hebe, Marcelo Romano, y Marcela Uhart. 2009. Recent and chronic exposure of wild ducks to lead in human-modified wetlands in Santa Fe Province, Argentina. *Journal of wildlife diseases* 45 (3): 823-27.
- Ferreyroa, Gisele, 2015. *Retención, biodisponibilidad y remediación de Pb en suelos: efectos de la interacción suelo-planta (Brassica napus) y bioacumulación* (Tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires.
- Freundlich, Herbert. 1926. *Colloid and Capillary Chemistry*. 3^o ed. New York: E. P. Dutton and Company.
- Galceran, J., E. Companys, J. Puy, J. Cecilia, J.L. Garces, 2003. AGNES: a new electroanalytical technique for measuring free metal ion concentration. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 566 (2004) 95–109.

www.elsevier.com/locate/jelechem

- Giles, Charles H., Anthony P. D'Silva, and Ian A. Easton. 1974. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm part. II. Experimental interpretation. *Journal of Colloid and Interface Science* 47, no. 3 (June): 766-778. Doi: 10.1016/0021-9797(74)90253-7.
- Giles, Charles H., David Smith, and Alan Huitson. 1974. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. *Journal of Colloid and Interface Science* 47, no. 3 (June): 755-765. doi: 10.1016/0021-9797(74)90252-5.
- González-Pérez, José A., Francisco J. González-Vila, Gonzalo Almendros, and Heike Knicker. 2004. The effect of fire on soil organic matter—a review. *Environment International* 30, no. 6 (August): 855–870. doi: 10.1016/j.envint.2004.02.003.
- Grant, W. Thomas. 1996. Methods of soil analysis. Part 3 Chemical Methods. Number 5 in *The soil science society of America Book Series*. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Gustafsson, J. P., I. Persson, D. B. Kleja, and J. W. J. van Schaiks. 2007. Binding of Iron (III) to Organic Soils: EXAFS Spectroscopy and Chemical Equilibrium Modeling. *Environmental Science & Technology* 41, no. 4: 1232–1237.
- Gustafsson, Jon Petter. 2011. *Visual Minteq* (version 3.0). Visual Basic. Stockholm, Sweden: KTH, Department of Land and Water Resources Engineering.

- Hamzeh, Mohammad Ali, Alijan Aftabi, y Mohammad Mirzaee. 2011. Assessing Geochemical Influence of Traffic and Other Vehicle-Related Activities on Heavy Metal Contamination in Urban Soils of Kerman City, Using a GISBased Approach. *Environmental Geochemistry and Health* 33 (6): 577-94. Doi: 10.1007/s10653-010-9372-0.
- Hayes, M. H. B., and R. L. Malcolm. 2001. Considerations of Compositions and of Aspects of the Structures of Humic Substances. In *Humic substances and chemical contaminants*, ed. C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi, P. R. Bloom, and P. M. Jardine. Madison, WI: Soil Science Society of America, January 1.
- Hayes, Michael H. B., Patrick McCarthy, Ronald L. Malcolm, and Roger S. Swift, eds. 1990. Humic Substances II: In *Search of Structure*. 1st ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, March 16.
- Hiemenz, Paul C., and Raj Rajagopalan. 1997. *Principles of colloid and surface chemistry*. 3^o ed. New York: Marcel Dekker.
- Hill, Terrell L. 1955. Corresponding States in Multilayer Step Adsorption. *The Journal of Physical Chemistry* 59, no. 10 (October 1): 1065-1067. doi:10.1021/j150532a017.
- Hinz, Christoph. 2001. Description of sorption data with isotherm equations. *Geoderma* 99, no. 3 (February): 225-243. Doi: 10.1016/S0016-7061(00)00071-9.
- Iglesias, Héctor A., and Jorge Chirife. 1982. *Handbook of food isotherms: Water sorption parameters for food and food components*. New York: Academic Press.
- Israelachvili, Jacob N. 2010. *Intermolecular and Surface Forces*. 3^o ed. Amsterdam: Academic Press, November 15.
- Jaroniec, M., and J. Tóth. 1976. Adsorption of gas mixtures on heterogeneous solid surfaces: I. Extension of Tóth isotherm on adsorption from gas mixtures. *Colloid and Polymer Science Kolloid Zeitschrift & Zeitschrift für Polymere* 254, no. 7 (7): 643-649. doi:10.1007/BF01753693.
- Jaroniec, Mieczysław, and Adam W. Marczewski. 1984. Physical adsorption of gases on energetically heterogeneous solids I. Generalized Langmuir equation and its energy distribution. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* 115, no. 8 (8): 997-1012. doi:10.1007/BF00798768.
- Johnston, Cliff T., and Y. O. Aochi. 1996. Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopy. In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, ed. Donald L. Sparks, 269–321. *Soil Science Society of America Book Series 5*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, January 1.

- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2001. *Trace elements in soils and plants*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton.
- Karlsson, Torbjörn, Per Persson, and Ulf Skyllberg. 2006. Complexation of Copper (II) in Organic Soils and in Dissolved Organic Matter – EXAFS Evidence for Chelate Ring Structures. *Environmental Science & Technology* 40, no. 8 (April 1): 2623–2628. doi:10.1021/es052211f.
- Kasparov, S. Y., F. A. Tikhomirov, and A. D. Fless. 1981. Use of disk electrophoresis to fractionate humic acids. *Soviet Soil Science* 36: 21.
- Kavtaradze, N. N., and E. A. Zelyaeva. 1970. Adsorption of nitrogen on iron and manganese. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR Division of Chemical Science* 19, no. 11 (11): 2465-2467. doi:10.1007/BF00859103.
- Kingery, William L., André J. Simpson, Fengxiang Han, and Baoshan Xing. 2001. Nuclear Magnetic Resonance Studies of Metal Interactions with Humic Substances. In *Humic Substances and Chemical Contaminants*, ed. C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi, P. R. Bloom, and P. M. Jardine, 397–426. Madison, WI: Soil Science Society of America, January 1.
- Kinniburgh, David G. 1986. General purpose adsorption isotherms. *Environmental Science & Technology* 20, no. 9: 895-904. Doi: 10.1021/es00151a008.
- Kleber, M., Lehmann, J., 2019. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Journal of Environmental Quality* 48, 207–216.

<https://doi.org/10.2134/jeq2019.01.0036>

- Koopal, L.K., van Riemsdijk, W.H., de Wit, J.C.M., Benedetti, M.F., 1994. Analytical Isotherm Equations for Multicomponent Adsorption to Heterogeneous Surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* 166, 51–60. <https://doi.org/10.1006/jcis.1994.1270>
- Kuo, Y.-C., and J.-P. Hsu. 1999. Double-Layer Properties of an Ion-Penetrable Charged Membrane: Effect of Sizes of Charged Species. *Journal of Physical Chemistry B* 103, no. 44: 9743-9748.
- Lal, R. 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123: 1-22.
- Langmuir, Irving. 1916. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. part i. solids. *Journal of the American Chemical Society* 38, no. 11 (November 1): 2221-2295. doi: 10.1021/ja02268a002.
- ---. 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica, and platinum. *Journal of the American Chemical Society* 40, no. 1: 136-160. doi: 10.1021/ja01271a002.

- R. Beckett. 2000. Diffusion coefficients and polydispersities of the Suwannee River fulvic acid: comparison of fluorescence correlation spectroscopy, pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance, and flow field-flow fractionation. *Environ. Sci. Technol* 34, no. 16: 3508–3513.
- Lavado, Raúl S., M. S. Rodríguez, J. D. Scheiner, M. A. Taboada, G. Rubio, R. Alvarez, M. Alconada, y M. S. Zubillaga. 1998. Heavy metals in soils o Argentina: comparison between urban and agrocltural soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29 (11-14): 1913-17.
 - Lavado, Raúl S., M. S. Zubillaga, R. Alvarez, y M. A. Taboada. 2004. Baseline Levels of Potentially Toxic Elements in Pampas Soils. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal* 13 (5): 329-39. Doi: 10.1080/10588330490500383.
 - Lehman, J., Kleber, M., 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528, 60. <https://www.argentina.gob.ar/ambiente/tierra>. Consulta 27/08/2019
 - Levine, Ira. 2008. *Physical Chemistry*. 6th ed. New York: McGraw-Hill Science/Engineering/Math, May 9.
 - Lyklema, J. 1991. *Fundamentals of Interface and Colloid Science*. Amsterdam: Academic Press, February 11.
 - Manning, T.J., T. Bennett, and D. Milton. 2000. Aggregation studies of humic acid using multiangle laser light scattering. *Science of the Total Environment* 257, no. 2–3: 171–176.
 - Marczewski, Adam W. 2002. *A Practical guide to isotherms of adsorption on heterogeneous surfaces*. http://adsorption.org/awm/index_m.htm
 - Marczewski, Adam W., and Mieczyslaw Jaroniec. 1983. A new isotherm equation for single-solute adsorption from dilute solutions on energetically heterogeneous solids. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* 114, no. 6: 711-715. Doi: 10.1007/BF01134184.
 - Maurice, P. A., and K. Namjesnik-Dejanovic. 1999. Aggregate Structures of Sorbed Humic Substances Observed in Aqueous Solution. *Environmental Science & Technology* 33, no. 9 (May 1): 1538–1541. Doi: 10.1021/es981113+.
 - McBride, M.B., 1994. *Environmental chemistry of soils*. Oxford University Press, New York. USA.
 - Mcdonald, J.A., 2000. Peer reviewed: evaluating natural attenuation for groundwater cleanup. *Environ. Sci. Technol.* 34, 346A-353A.
 - McQuarrie, Donald A., and John D. Simon. 1997. *Physical Chemistry: A Molecular Approach*. Herndon, VA: University Science Books, July 1.

- Mielke, Howard W., Mark A.S. Laidlaw, y Chris R. Gonzales. 2011. «Estimation of leaded (Pb) gasoline's continuing material and health impacts on 90 US urbanized areas». *Environment International* 37 (1): 248-57. Doi: 10.1016/j.envint.2010.08.006.
- Molina, Fernando V. 2013. *Soil colloids: Properties and ion binding*. Surfactant science series 156. Boca Raton: CRC Press.
- Montenegro, Andrea C., Silvia Orsetti y Fernando V. Molina, 2014. Modelling proton and metal binding to humic substances with the NICA–EPN model. *Environ. Chem.* 11, 318–332

<http://dx.doi.org/10.1071/EN13214>

- Myneni, S.C.B., 2019. Chemistry of Natural Organic Matter—The Next Step: Commentary on a Humic Substances Debate. *Journal of Environmental Quality* 48, 233–235.

<https://doi.org/10.2134/jeq2019.02.0002c>

- Needleman, Herbert. 2004. Lead Poisoning. *Annual Review of Medicine* 55 (1): 209-22. Doi: 10.1146/annurev.med.55.091902.103653.
- Nieto-Velázquez, Silvia, Lourdes Pacheco-Hernández, Carlos A. Galán-Vidal y María E. Páez-Hernández, 2011. Estudio de las Interacciones Ácido Húmico-Metales Pesados y Determinación de sus Constantes de Estabilidad por Electroforesis Capilar. *Información Tecnológica*–Vol. 22 N°3, pp: 45–54

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642011000300007

- Olk, D.C., Bloom, P.R., Perdue, E.M., McKnight, D.M., Chen, y., Farenhorst, A., Senesi, N., Chin, Y.-P., Schmitt-Kopplin, P., Hertkorn, N., Harir, M., 2019. Environmental and Agricultural Relevance of Humic Fractions Extracted by Alkali from Soils and Natural Waters. *Journal of Environmental Quality* 48, 217–232.

<https://doi.org/10.2134/jeq2019.02.0041>

- Olk, D.C., Bloom, P.R., Nobili, M.D., Chen, Y., McKnight, D.M., Wells, M.J.M., Weber, J., 2019. Using Humic Fractions to Understand Natural Organic Matter Processes in Soil and Water: Selected Studies and Applications. *Journal of Environmental Quality* 48, 1633–1643.

<https://doi.org/10.2134/jeq2019.03.0100>

- Ohshima, Hiroyuki, and Tamotsu Kondo. 1993. Electrophoretic mobility of a "soft particle" with a nonuniformly charged surface layer as a model for cells. *Biophysical Chemistry* 46, no. 2 (Abril): 145-152. Doi: 10.1016/0301-4622(93)85021-9.

- Orsetti, Silvia, 2010. *Estudio de la heterogeneidad de ácidos húmicos en el enlace de cationes*. (Tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física. Buenos Aires.
- Osman, K.T., 2014. *Soil degradation, conservation, and remediation*. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Parsons, Roger. 1964. The description of adsorption at electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry (1959)* 7, no. 2 (February): 136-152. Doi: 10.1016/0022-0728(64)85007-5.
- Piccolo, A., G. Celano, and P. Conte. 1996. Adsorption of Glyphosate by Humic Substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, no. 8 (January 1): 2442-2446. doi:10.1021/jf950620x.
- Plaschke, M., J. Römer, R. Klenze, and J. I. Kim. 1999. In situ AFM study of sorbed humic acid colloids at different pH. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 160, no. 3 (December): 269–279. Doi: 10.1016/S0927-7757(99)00191-0.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. 2003. *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. 3ª ed. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Pranzas, P., Regine Willumeit, Rainer Gehrke, Jürgen Thieme, and Arndt Knöchel. 2003. Characterization of structure and aggregation processes of aquatic humic substances using small-angle scattering and X-ray microscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 376, no. 5 (July 12): 618–625. Doi: 10.1007/s00216-003-1970-6.
- Pretsch, Ernő, Philippe Bühlmann, and Martin Badertscher. 2009. *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*. 4th ed. Springer, April 23.
- Puy, Jaume, Josep Galceran, C E' Sar Huidobro, Encarnació Companys, Núria Samper, Josep Lluís Garcés, And Francesc Mas, 2008. *Conditional Affinity Spectra of Pb²⁺-Humic Acid Complexation from Data Obtained with AGNES*.
- Razo, I., Carrizalez, L., Castro, J., Díaz-Barriga, F., Monroy, M., 2004. Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climateminig area in Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution* 152, 129-152.
- Reeves III, James B. 2010. Near- versus mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for soil analysis emphasizing carbon and laboratory versus on-site analysis: Where are we and what needs to be done? *Geoderma* 158, no. 1–2 (August 15): 3–14. Doi: 16/j.geoderma.2009.04.005.

- Van Riemsdijk, W. H., L. K. Koopal, D. G. Kinniburgh, M. F. Benedetti, and L. Weng. 2006. Modeling the interactions between humics, ions, and mineral surfaces. *Environmental science & technology* 40, no. 24: 7473–7480.
- Ritchie, J.D., and E. Michael Perdue. 2003. Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67, no. 1: 85–93.
- Roca, Núria, Mabel Susana Pazos, y Jaume Bech. 2008. The relationship between WRB soil units and heavy metals content in soils of Catamarca (Argentina). *Journal of Geochemical Exploration* 96 (2–3): 77-85. Doi: 10.1016/j.gexplo.2007.04.004.
- Rocha, L.S., Companys, E., Galceran, J., Carapuça, H.M., Pinheiro, J.P., 2010. Evaluation of thin mercury film rotating disk electrode to perform absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping (AGNES) measurements. *Talanta* 80, 1881–1887.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.10.038>

- Rocha, Milton Silva da, Koshun Iha, Antônio Cândido Faleiros, Evaldo José Corat, and Maria Encarnación Vázquez Suárez-Iha. 1997. Freundlich's Isotherm Extended by Statistical Mechanics. *Journal of Colloid and Interface Science* 185, no. 2 (January 15): 493-496. doi:10.1006/jcis.1996.4588.
- Rodriguez, J.H., M.J. Salazar, L. Steffan, M.L. Pignata, J. Franzaring, A. Klumpp, y A. Fangmeier. 2014. Assessment of Pb and Zn Contents in Agricultural Soils and Soybean Crops near to a Former Battery Recycling Plant in Córdoba, Argentina. *Journal of Geochemical Exploration* 145: 129-34. Doi: 10.1016/j.gexplo.2014.05.025.
- Romano, Marcelo, Hebe Ferreyra, Gisele V. Ferreyroa, Fernando V Molina, A. Caselli, Ignacio Barberis, Pablo Beldoménico, y Marcela Uhart. 2015. *Lead pollution from waterfowl hunting in wetlands and rice fields in Argentina*. Science of the total environment.
- Schulze E.D. y Freibauer A., 2005. Environmental science: carbon unlocked from soils. *Nature Sep 8*; 437(7056):205-6.
- Selonen, Salla, Mira Liiri, Rauni Strömmer, y Heikki Setälä. 2012. The Fate of Lead at Abandoned and Active Shooting Ranges in a Boreal Pine Forest. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (12): 2771-79. Doi: 10.1002/etc.1998.
- Senesi, N. 1990. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals: Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Analytica Chimica Acta* 232, no. 1: 77–106.

- Senesi, Nicola, and Elisabetta Loffredo. 1998. The Chemistry of Soil Organic Matter. In *Soil Physical Chemistry*, ed. Donald L. Sparks, 239–370. 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, July 7.
- ---. 2005. Metal Ion Complexation by Soil Humic Substances. In *Chemical Processes in Soils*, ed. M. Ali Tabatabai and Donald L. Sparks, 563–617. SSSA Book Series 8. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America.
- Senesi, N. and Loffredo, E. (2005) 'Metal Ion Complexation by Soil Humic Substances', in Tabatabai, M. A. and Sparks, D. L. (eds) *Chemical Processes in Soils*. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America (SSSA Book Series, 8), pp. 563–617.
- Simpson, A. J., J. Burdon, C. L. Graham, M. H. B. Hayes, N. Spencer, and W. L. Kingery. 2001a. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *European Journal of Soil Science* 52, no. 3: 495–509. doi:10.1046/j.1365-2389.2001.00402.x.
- ---. 2001b. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *European Journal of Soil Science* 52, no. 3: 495–509. doi:10.1046/j.1365-2389.2001.00402.x.
- Simpson, A.J., W.L. Kingery, M.H. Hayes, M. Spraul, E. Humpfer, P. Dvortsak, R. Kerssebaum, M. Godejohann, and M. Hofmann. 2002. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* 89, no. 2: 84–88.
- Sips, Robert. 1948. On the Structure of a Catalyst Surface. *The Journal of Chemical Physics* 16, no. 5 (May 0): 490-495. doi:10.1063/1.1746922.
- van der Sloot et al. 1996 Developments in evaluating environmental impact from utilization of bulk inert wastes using laboratory leaching tests and field verification. *Waste Management, Volume 16*, Issues 1–3, 65-81. Doi: 10.1016/S0956-053X(96)00028-1
- Sparks, D., (2003). *Environmental soil chemistry*, 2nd ed. Academic Press, San Diego, USA.
- Steinnes, E., 2013. Lead, en Alloway, B.J. (Ed.), *Heavy metals in soils*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 395-410.
- Stevenson, F. J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 2nd ed. Wiley, August 12.
- Sutton, Rebecca, and Garrison Sposito. 2005. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environmental Science & Technology* 39, no. 23 (December 1): 9009–9015. doi:10.1021/es050778q.

- Swift, Roger S. 1996. Organic Matter Characterization. In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, ed. Donald L. Sparks. Soil Science Society of America Book Series 5. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, January 1.
- Tack, F.M.G., 2010. Trace Elements: General soil chemistry, principles and processes, in: Hooda, P. (Ed.), *Trace elements in soils*. John Wiley & Sons, Chichester, U.K., pp. 9-37.
- Tarcan, G., Akinci, G., Danisman, M.A., 2010. Assessment of the pollution from tannery effluents upon waters and soils in and around Kula Vicinity, Turkey. *Water, Air and Soil Pollution* 213, 199-210.
- Thomas, Grant W. 1994. Capítulo 16: Soil pH and Soil Acidity. En: *Methods of Soil Analysis. Part 3: Chemical Methods*, de Sparks, D.L. et al., ed: Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, Inc. y American Society of Agronomy, Inc.
- Tipping, E. 2002. *Cation Binding by Humic Substances*. Cambridge University Press, New York.
- Tombacz, E. y Meleg, E., 1990. A theoretical explanation of the aggregation of humic substances as a function of pH and electrolyte concentration. *Organic Geochemistry* 15, no. 4:375-381. Doi: 10.1016/0146-6380(90)90164-U.
- Tóth, József. 1995. Uniform interpretation of gas/solid adsorption. *Advances in Colloid and Interface Science* 55 (March 1): 1-239. doi: 10.1016/0001-8686(94)00226-3.
- Venegas Sepúlveda, Andrea, 2015. *Evaluación de la adición de materiales de origen orgánico para la remediación de suelos contaminados con metales pesados*. (Tesis doctoral) Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Vergel Rodríguez, Cristina, 2011. *Desarrollo de procesos químicos de separación por membranas para la caracterización de sistemas marinos afectados por contaminación metálica* (Tesis doctoral). Universidad de Cádiz. Cádiz.
- Wang, Jianfeng, and Marte S. Gutierrez. 2010. Molecular Structural Transformation of 2:1 Clay Minerals by a Constant-Pressure Molecular Dynamics Simulation Method. *Journal of Nanomaterials* 2010: 1-13. doi:10.1155/2010/795174.
- Wang, Zhendi, Donald S. Gamble, and Cooper H. Langford. 1992. Interaction of atrazine with Laurentian soil. *Environmental Science & Technology* 26, no. 3 (March 1): 560-565. Doi: 10.1021/es00027a019.
- Wells, M.J.M., 2019. Supramolecular Answers to the Organic Matter Controversy. *Journal of Environmental Quality* 48, 1644–1651.

<https://doi.org/10.2134/jeq2019.02.0089>

- Wershaw, Robert L. 2004. Evaluation of conceptual models of natural organic matter (humus) from a consideration of the chemical and biochemical processes of humification. *Scientific Investigations Report*. Denver, CO: USGS. <http://pubs.er.usgs.gov/usgspubs/sir/sir20045121>.
- Wierzbicka, M., y D. Antosiewicz. 1993. How lead can easily enter the food chain — a study of plant roots. *Science of The Total Environment, Proceedings of the 2nd European Conference on Ecotoxicology, 134*, Supplement 1: 423-29.
- Xia, Kang, William Bleam, and Philip A. Helmke. 1997. Studies of the nature of Cu²⁺ and Pb²⁺ binding sites in soil humic substances using X-ray absorption spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta 61*, no. 11 (June): 2211–2221. doi: 10.1016/S0016-7037(97)00079-3.
- Young, S.D., 2013. Chemistry of heavy metals and metalloids in soils, en: Alloway, B.J. (Ed.), *Heavy metals in soils*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 51-96.
- Zevenhoven, R. y Kilpinen, P., 2001. Trace elements, alkali metals, en: *Control of pollutants in flue Gases and fuel Gases*. Helsinki University of Technology, Espoo.
- Zubillaga, M. S., y Raúl S. Lavado. 2002. Fertilización fosfatada prolongada y contenido de elementos traza en un Argiudol típico de la pampa ondulada. *Ciencia del Suelo 20* (2): 110-13.
- Secretaría de Gobierno de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación, 2019.

<http://visor.geointa.inta.gob.ar/>

<http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/series/Juin.htm> (consultado 03/09/2019)

- International Humic Substances Society (IHSS) <http://humic-substances.org/isolation-of-ihss-soil-fulvic-and-humic-acids/> (consultado 07/08/2019)
- Agencia Europea de Medio Ambiente, 2004 <https://www.eea.europa.eu/es> (Consultada 16/09/2019)