

## CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS Y FÚLVICOS DE UN MOLLISOL BAJO DOS COBERTURAS DIFERENTES

### CHARACTERIZATION OF HUMIC AND FULVIC ACIDS FROM A MOLLISOL UNDER TWO DIFERENT COVERLANDS

Ingrid R. Zamboni C., María I. Ballesteros G.<sup>1</sup> y Adriana M. Zamudio S.<sup>2</sup>

Recibido: 16/12/05 – Aceptado: 15/11/06

#### RESUMEN

Para evaluar y comparar algunas propiedades de los ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF) como el grado de condensación y polimerización, el contenido total de carbono, hidrógeno y nitrógeno, y sus constantes de acidez, se analizó la fracción menor a 50  $\mu\text{m}$  de un Mollisol del horizonte Ap, bajo caña de azúcar, y se comparó con un horizonte A, bajo bosque.

Para tal fin se hicieron extracciones sucesivas con tetraborato de sodio 0,05 M, pirofosfato de sodio 0,025 M e hidróxido de sodio 0,1M. Las sustancias húmicas se purificaron mediante tratamientos con ácidos inorgánicos en solución al 1% de HCl y HF, resinas de absorción Amberlita XAD-16 e intercambio catiónico R101 H<sup>+</sup>, diálisis y liofilización, y se caracterizaron por análisis elemental, relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> y potenciometría ácido-base de acuerdo con las funciones de Gran modificadas.

La relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> permitió establecer mayores tamaños moleculares y grado de condensación de los ácidos húmicos en relación con los ácidos fúlvicos. Por potenciometría ácido-base se determinaron, en los ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, las concentraciones de grupos funcionales ácidos y sus respectivas constantes de acidez. Dos de éstas, tituladas entre pH 4,0 y 6,1 corresponden a grupos carboxílicos, las otras dos entre pH 7,2 y 8,7 son el resultado de grupos -OH fenólicos fuertes y carboxílicos débiles. En el horizonte Ap, bajo caña de azúcar, los resultados demostraron que las prácticas de uso y manejo de este cultivo han llevado a la homogeneización de las sustancias húmicas, mientras que en el horizonte A bajo bosque existen ácidos húmicos y fúlvicos diferenciados por tamaño molecular, aromaticidad y grado de humificación.

**Palabras clave:** mollisol, ácidos húmicos y fúlvicos, potenciometría ácido-base

1 Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia. miballesterosg@unal.edu.co

2 Laboratorio Nacional de Suelos, Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, Colombia. amzamudi@igac.gov.co

## ABSTRACT

In order to determine and to compare some physicochemical properties of humic (HA) and fulvic (FA) acids such as degree of condensation and polymerization, the total C,H,N content and pKa values were analyzed in the smaller fraction (< 50 m) from Ap horizon under sugarcane crop in opposition to A horizon under forest, both Mollisol order.

To carry out this aim, successive extractions with sodium tetraborate 0.05 M, sodium pyrophosphate 0.025 M, and sodium hydroxide 0.1 M were made. The purification of these humic substances by treatment with inorganic acids 1% solutions of HCl and HF, Amberlite XAD-16 adsorption resin and R 101H<sup>+</sup> cationic exchange, dialysis and freeze drying were done. The humic and fulvic acids were characterized by elemental analysis, E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> relation and acid-base potentiometry.

The ratio E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> allows to establish that molecular size and degree of condensation in humic acids were bigger than in fulvic acids. By means of acid-base potentiometry, the concentrations of functional acid groups and their acid constants in the humic and fulvic acids were determined. Four constants were found; first and second between pH 4.0 and 6.1 correspond to different kinds of carboxyl groups and another two between pH 7.2 and 8.7 come from strong O-H phenolic and weak carboxyl groups. In the Ap horizon under sugarcane the characterization showed that the handling and land use practices promote the homogeneity of humic substances meanwhile in the A horizon under forest; the humic and fulvic acids are different due to their degree of

condensation molecular size and humification index.

**Key words:** Mollisol, humic acid, fulvic acid, acid-base potentiometry.

## INTRODUCCIÓN

El componente orgánico del suelo está principalmente relacionado con la productividad y el desarrollo benéfico de las plantas, el que se integra perfectamente con el conjunto de los factores del medio, ya sean climáticos y biológicos, como elemento motor de la edafogénesis.

En los Mollisoles de Colombia las características propias de las sustancias húmicas estabilizan los compuestos orgánicos y cumplen condiciones para establecer el horizonte mólico mediante la melanización, presentando mayores proporciones de ácidos húmicos y relaciones adecuadas de C/N. Tradicionalmente, en otras partes del mundo las condiciones de praderas aportan grandes contenidos de materiales orgánicos, formando un horizonte A profundo, a diferencia de los Mollisoles en estos suelos, donde las condiciones climáticas y el manejo de cultivos no favorecen el aporte de biomasa y, por tanto, sus contenidos de carbono orgánico son relativamente menores.

Dado que los ácidos húmicos y fúlvicos son componentes principales de los complejos órgano-minerales de los Mollisoles formados, es determinante conocer sus propiedades fisicoquímicas, para lo cual se han establecido técnicas de extracción, separación y purificación que permiten su caracterización.

La extracción de las sustancias húmicas con álcalis ha sido objeto de gran controversia por ser un método relativamente fuerte; no obstante, es uno, de los más utilizados, debido a la cantidad apreciable de humus soluble que se extrae. Según el objetivo de cada estudio se utilizan diferentes extractantes dentro de los cuales se encuentran sales neutras y bases como tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sodio; de esta forma se minimizan las posibles transformaciones en la estructura de las sustancias húmicas por polimerización y la presencia de impurezas de carácter no húmico (1-3).

El tetraborato de sodio permite diferenciar enlaces electrostáticos, que son de fácil rompimiento por simple intercambio iónico de las sustancias órgano-minerales móviles; las sustancias extraídas constituyen una fracción relativamente baja en peso molecular. El pirofosfato de sodio rompe enlaces de coordinación presentes en uniones de materia orgánica-arcillas, y el hidróxido de sodio rompe casi todos los enlaces órgano-minerales (3).

Entre las técnicas utilizadas para determinar las características fisicoquímicas de las sustancias húmicas se encuentran el análisis elemental de C, H, N y O, técnicas espectroscópicas como Ultravioleta Visible (relación  $E_4/E_6$ ), Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear, Espectroscopia de Fluorescencia, Resonancia de Electrón Spin y Difracción de Rayos X, entre otras. También se han utilizado técnicas potenciométricas y conductimétricas para la determinación de constantes de acidez, constantes de formación de complejos ion-metal utilizando como herramienta modelos para describir las propiedades ácido-base (4).

Las sustancias húmicas tienen un gran número de sitios ionizables con propiedades ácido-base de gran interés para comprender la dinámica de estas sustancias húmicas, ya que se relacionan con el tiempo de mineralización de los componentes del suelo, el aprovechamiento de nutrientes, la interacción con iones contaminantes y su capacidad buffer (5, 6). Por tal razón, la determinación de las constantes de acidez de estos grupos abre una ventana al entendimiento de la especiación de las sustancias húmicas. Sin embargo, la heterogeneidad y complejidad de estos compuestos ha llevado al planteamiento de modelos que permitan explicar y analizar los resultados y relacionarlos con sus características fisicoquímicas y su efecto en las propiedades del suelo (7, 8).

Los estudios de acidez de las sustancias húmicas realizados a nivel internacional (9-12), generalmente se han realizado mediante titulaciones potenciométricas que permiten cuantificar diferentes funciones ácidas, calcular los valores de pKa aparentes y favorecer el entendimiento de la naturaleza polielectrolítica de los ácidos húmicos (4, 13).

Las titulaciones potenciométricas en medio acuoso fueron estudiadas por Aleixo y cols. (14) y Masini (15) utilizando como herramienta matemática para el cálculo de las constantes de acidez las funciones de Gran modificadas. Estas funciones son una serie de ecuaciones lineales fundamentadas en balances de carga y masa, y teniendo con una mezcla de ácidos monopróticos débiles (modelo de sitios discretos) como modelo (5).

Las funciones de Gran han sido de gran interés porque representan uno de los pri-

meros pasos para linealizar las curvas de titulación permitiendo calcular el volumen de equivalencia al utilizar varios puntos de la curva de titulación en lugar de usar solamente el punto de inflexión (12). Las constantes de disociación son calculadas de las pendientes de la curva de las funciones de Gran modificadas y las concentraciones están dadas por los interceptos de la curva con las abscisas (15).

El estudio se realizó en un Mollisol del Valle del Cauca, cuyo Orden representa el 35,9% de los suelos de Colombia. Tienen una alta saturación de bases si se comparan con otros suelos del país y contenidos relativamente altos de P asimilable, tendencia a la neutralidad, además de la presencia variable de carbonatos. Sin embargo, las condiciones climáticas y el ma-

nejo de cultivos en algunas zonas no favorecen el alto aporte de biomasa (16).

Con base en lo anterior, en este trabajo se plantearon como objetivos la caracterización de ácidos húmicos y fúlvicos presentes en la fracción menor a  $50 \mu\text{m}$  de los horizontes A y Ap de un Mollisol bajo coberturas de bosque natural y caña de azúcar respectivamente, mediante relaciones elementales de C, H, N y O,  $E_4/E_6$  y el comportamiento ácido-base, según determinación de las constantes de acidez obtenidas por linealización de las curvas de titulación potenciométrica de acuerdo con las funciones de Gran modificadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Suelos:** la procedencia y descripción de cada suelo se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Descripción y propiedades de los suelos en estudio\*

PARÁMETRO	HORIZONTES	
	A	Ap
TAXONOMÍA	<i>Pachic Haplustolls</i>	<i>Pachic Haplustolls</i>
Uso actual	Bosque natural	Caña de azúcar
Localización geográfica	Departamento del Valle del Cauca, municipio El Cerrito, finca el Hatico	
Profundidad	0-52 cm	0-15 cm
pH (1:1)	6,7	6,4
Textura	Franco arcillosa	Franco
% carbono total (análisis elemental)	3,54	3,36
% nitrógeno total (análisis elemental)	0,23	0,18
Fósforo disponible (mg/kg) (Bray II modificado)	9,0	43,9
C.I.C (cmol <sup>(+)</sup> / Kg de suelo)	21,4	21,0
Ca <sup>2+</sup> - interc (cmol <sup>(+)</sup> / Kg de suelo)	14,2	15,8
Mg <sup>2+</sup> - interc (cmol <sup>(+)</sup> / Kg de suelo)	8,9	6,1

\* Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

**Preparación de las muestras de suelo:** por secado al aire y tamizado por malla de 2 mm.

**Fraccionamiento granulométrico y extracción sucesiva de sustancias húmicas:** el fraccionamiento se hizo por suspensión del suelo en agua destilada seguido de tamizado en húmedo a  $50\ \mu\text{m}$  (17). A la fracción menor a  $50\ \mu\text{m}$  se le realizaron extracciones sucesivas con tres extractantes alcalinos para obtener en cada caso la fracción húmica soluble (ácidos húmicos y fúlvicos); se inició con tetraborato de sodio 0,05 M, a continuación se extrajo con pirofosfato de sodio 0,025 M y finalmente con hidróxido de sodio 0,1 M (18).

**Separación y purificación de las fracciones húmicas:** se hizo la separación de ácidos húmicos y fúlvicos y la purificación de húmicos de acuerdo con la metodología propuesta por el IGAC (18) y Schnitzer (2).

**Purificación de ácidos fúlvicos:** se realizó a través de una resina de adsorción XAD-16 y elusión de los ácidos fúlvicos retenidos con NaOH 0,7 M, luego se pasaron por resina de intercambio catiónico R 101  $\text{H}^+$ ; se controló la eliminación de sales por medición de la conductividad

eléctrica y el pH. Finalmente, se sometieron a diálisis en membrana de celulosa de 3.500 Daltons y liofilización. (2, 17, 18).

**Caracterización de las sustancias húmicas:** una vez purificadas, se les determinó por análisis elemental el contenido total de C, H y N en un analizador LECO 1000; por espectroscopia visible se encontró la relación E4/E6 (absorbancia a 465 nm/absorbancia a 665 nm) y mediante potenciometría ácido-base se establecieron las curvas de titulación potenciométrica, bajo atmósfera de nitrógeno, entre pH 2,0 y 11,5, fuerza iónica ajustada con KCl 0,1 M y temperatura de reacción  $25\ ^\circ\text{C}$ ; estas curvas de titulación se linealizaron por aplicación de las funciones de Gran modificadas para encontrar las constantes de acidez (pKa) ( 5, 6, 11, 14, 20).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con la Tabla 1, para Mollisoles los suelos presentaron pH cercano a la neutralidad, textura franco y franco arcillosa, capacidad de intercambio catiónico (CIC) adecuada, contenido de calcio y magnesio altos, medio de nitrógeno total y bajo porcentaje de carbono total. Para el suelo bajo caña de azúcar se encontró un

**Tabla 2.** Análisis elemental de C, H y N de las fracciones de suelo obtenidas en los procesos de separación física y química

Uso o cobertura	Fracción	%C	%H	%N	C/N	CIC $\text{cmol}^{(+)}/\text{K g Suelo}$
Caña de azúcar	< 2mm	2,42	0,77	0,13	18,88	22,1
	<50 $\mu\text{m}$	2,28	0,72	0,13	18,11	21,7
Bosque	< 2mm	2,48	0,92	0,14	17,07	24,0
	<50 $\mu\text{m}$	2,16	0,86	0,13	16,06	23,6

contenido de fósforo alto (43,9 mg/kg), contrastante con el de bosque (9,0 mg/kg de suelo), esta diferencia se debe posiblemente a la adición de abonos orgánicos como gallinaza.

En el horizonte Ap del suelo bajo caña de azúcar es probable que con las prácticas de labranza se disminuya la estabilidad de su estructura; sin embargo, el uso de abonos orgánicos beneficia la acumulación parcial de material orgánico y mantiene las condiciones para su transformación. En el Mollisol bajo bosque, el estar expuesto solo a efectos ambientales y no a la intervención del hombre permite que el material orgánico sea recirculado y que la estructura edáfica se mantenga; sin embargo, la presencia de un horizonte O y las condiciones ambientales promueven la mineralización rápida del material orgánico fresco con lo que se disminuye su incorporación al horizonte A y, por ende, no se llevan a cabo procesos de humificación continuos, por lo que es probable que las sustancias húmicas aumenten lentamente, como lo menciona Duchafour (21).

En la fracción menor a 50  $\mu\text{m}$  se ubican los limos y las arcillas, que durante el proceso de formación y evolución del suelo forman complejos húmico-arcillosos, con el material orgánico depositado, y que ha sufrido procesos de humificación. Estos complejos generan estructuras y condiciones favorables para el suelo, por lo que reflejan el efecto de las prácticas de uso y manejo, y las condiciones edáficas (21).

En el suelo tanto bajo bosque como bajo caña de azúcar se encontró que la fracción de suelo menor a 50  $\mu\text{m}$  representa un porcentaje en peso bastante alto

con relación al suelo total, entre 79-82%; sin embargo, esto no indica que el contenido de material orgánico humificado sea alto, no obstante que las condiciones edáficas como el contenido alto de arcillas, humedad y pH sean las apropiadas para llevar a cabo procesos de humificación, lo que pone en evidencia un rápido proceso de mineralización. El porcentaje de carbono total de la fracción menor a 50  $\mu\text{m}$  fue mayor que el de la fracción mayor a 50  $\mu\text{m}$ , lo que indica que la primera fracción es más rica en compuestos orgánicos humificados, unidos generalmente a material arcilloso.

Las relaciones C/N encontradas tanto en la fracción del suelo menor a 2 mm, como en la menor a 50  $\mu\text{m}$  estuvieron entre 16 y 19 aproximadamente, que son mucho menores a las encontradas en la fracción mayor a 50  $\mu\text{m}$ , la cual estuvo entre 33 y 37. Esta diferencia indica que el contenido de nitrógeno es muy bajo en esta última y, por consiguiente, aunque se lleven a cabo procesos de mineralización, serían de eficiencia baja.

Los resultados de la Tabla 3 permitieron establecer que el contenido de carbono orgánico correspondiente a los ácidos húmicos fue mucho mayor que el de los fúlvicos en los tres extractos, lo cual está de acuerdo con lo mencionado por Stevenson (3) en cuanto al predominio de AH sobre AF en Mollisoles, ya que este tipo de suelo se caracteriza por presentar un alto grado de evolución y buen contenido de bases como calcio, que favorece la permanencia y estabilidad de las sustancias húmicas (21). En cuanto a la efectividad del extractante, se notó que en general el pirofosfato fue la solución que más ácidos húmicos extrajo.

**Tabla 3.** Carbono orgánico (%) de ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF) y relación AH/AF en cada uno de los extractantes utilizados

EXTRACTANTE	CAÑA DE AZÚCAR			BOSQUE		
	%CO DE AH	%CO DE AF	RELACIÓN AH/AF	%CO DE AH	%CO DE AF	RELACIÓN AH/AF
Tetraborato de sodio 0,05 M	0,51	0,05	10,20	0,39	0,11	3,55
Pirofosfato de sodio 0,025 M	0,69	0,07	9,86	0,45	0,07	6,43
Hidróxido de sodio 0,1 M	0,39	0,13	3,00	0,24	0,17	1,41

En los extractos de tetraborato y pirofosfato la relación AH/AF de la materia orgánica en la fracción menor a  $50\mu\text{m}$  del suelo bajo caña de azúcar presentó valores alrededor de 10, que son relativamente altos, lo que indica que en el componente orgánico predomina materia orgánica polimerizada. La proximidad de los valores de AH/AF se atribuye posiblemente a la actividad agrícola intensiva que generó la combinación y homogeneización del material orgánico en el proceso de humificación.

Por el contrario, en el suelo bajo bosque se encontró una relación AH/AF aproximadamente menor de 6 (Tabla 3), lo que permitió inferir la presencia de sustancias húmicas menos polimerizadas. De estos resultados se puede concluir que posiblemente por condiciones de microclima y aportes de biomasa se está dando una transformación relativamente rápida de ácidos fúlvicos en ácidos húmicos en el suelo bajo caña de azúcar, por lo que estarían predominando procesos de humificación sobre los de mineralización.

La presencia más evidente de ácidos fúlvicos en el extracto de hidróxido en ambos horizontes hace pensar que estos compuestos, por su contenido de grupos

activos como carboxilos y  $-\text{OH}$  fenólicos, tienen más posibilidad de interaccionar con el material mineral por la formación de quelatos.

#### Análisis elemental

Los resultados del análisis elemental de C, H, N y O, sus relaciones elementales y la relación  $E_4/E_6$  de los ácidos húmicos aparecen en la Tabla 4. Se encontró que la relación C/H estuvo en un intervalo de valores entre 10 y 13, excepto para los extraídos con hidróxido en el suelo bajo bosque que presentaron un valor de 7,8, lo que demuestra menor grado de aromaticidad.

La relación C/N en el humus transformado indica la actividad biológica global de la materia orgánica humificada. La relación C/N fue alta para los ácidos húmicos extraídos con tetraborato y pirofosfato, lo que indica que el contenido de nitrógeno es muy bajo y, por tanto, la capacidad mineralizadora también lo es. Un incremento en la relación C/N conlleva un decrecimiento de la susceptibilidad del sustrato a la mineralización, por lo que es posible que estos ácidos estén más expuestos a procesos de humificación. En la fracción de hidróxido se encontraron re-

**Tabla 4.** \*\*Resultados de análisis elemental de los ácidos húmicos y fúlvicos provenientes de la extracción secuencial

HORIZONTE	EXTRACTANTE	SUSTANCIAS HÚMICAS SOLUBLES	*pH	E4/E6	ANÁLISIS ELEMENTAL						
					C	H	N	O	C/H	C/N	C/O
A-Bosque	Tetraborato de sodio	AH	5,43	4,65	43,65	3,836	2,012	50,50	11,38	21,69	0,86
		AF	5,90	5,49	36,84	4,084	0,456	58,62	9,02	80,79	0,63
	Pirofosfato de sodio	AH	5,58	2,99	47,38	3,506	2,058	47,06	13,51	23,02	1,01
		AF	6,19	3,85	--	--	--	--	--	--	--
	Hidróxido de sodio	AH	5,33	3,70	40,22	5,153	3,361	51,27	7,81	11,97	0,78
		AF	5,93	6,23	--	--	--	--	--	--	--
Ap-Caña	Tetraborato de sodio	AH	5,32	3,48	38,92	2,825	1,16	57,10	13,78	33,55	0,68
		AF	6,21	5,63	--	--	--	--	--	--	--
	Pirofosfato de sodio	AH	5,50	3,84	42,15	3,624	1,941	52,29	11,63	21,72	0,81
		AF	6,22	3,67	--	--	--	--	--	--	--
	Hidróxido de sodio	AH	5,61	3,74	49,08	4,607	4,423	41,89	10,65	11,10	1,17
		AF	6,01	5,22	--	--	--	--	--	--	--

\* pH de una solución de concentración: 2 mg de ácido/150 mL de KCl 0,1 M.

\*\* Los resultados son el promedio de dos réplicas.

-- Muestra insuficiente para el análisis.

laciones de C/N mucho más bajas, alrededor de 11; por tanto, se deduce que en estas sustancias hay mayor cantidad de nitrógeno, lo que posiblemente está relacionado con el contenido de floculantes y estabilizantes como hierro y calcio (21).

La relación C/O es un indicativo del grado de acidez de las sustancias húmicas. El valor más alto se obtuvo en el horizonte Ap bajo caña de azúcar, lo que evidencia la presencia de sustancias de menor carácter ácido, acorde con el mayor grado de polimerización encontrado.

### Relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>

Los valores de la relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> de los ácidos fúlvicos de los dos horizontes estuvieron entre 3,7 y 6,2 y fueron mayores que los de los ácidos húmicos, entre 3,0 y 4,6; por lo que se puede inferir que los ácidos fúlvicos presentan menor tamaño y peso molecular, menor contenido de carbono y más oxígeno que los ácidos húmicos, lo cual se corrobora con la relación C/O. Estos resultados confirman lo mencionado por otros autores (2, 20, 21) en cuanto a que una relación baja está asociada con un alto peso molecular, alto

contenido de carbono y bajo contenido de oxígeno lo que es característico de los ácidos húmicos.

En los dos suelos el hidróxido de sodio extrajo ácidos húmicos con relación E4/E6 aproximadamente igual. Sin embargo, en los extraídos del suelo bajo bosque se notaron más diferencias entre extractantes; caso contrario a lo hallado en el suelo bajo caña de azúcar. Estos resultados muestran homogeneización de la materia orgánica.

### Potenciometría ácido-base

Los valores de las constantes de acidez ( $pK_a$ ) de los ácidos húmicos y fúlvicos de cada uno de los extractantes se obtienen utilizando las funciones de Gran modificadas (4, 6, 15, 22) en las que se aplican cálculos iterativos que permiten, a partir de aproximaciones, obtener valores cada vez más precisos, esto se evalúa utilizando el coeficiente de correlación de la recta que representa la función de Gran.

Los valores obtenidos son el resultado de una primera aproximación que produjo una función con un buen coeficiente de correlación, por tanto, serán llamados constantes de acidez aproximadas. Las constantes de acidez aproximadas para cada uno de los ácidos húmicos y fúlvicos analizados se encuentran reportadas en la Tabla 5. Se observó que los valores de  $pK_a$  se encuentran en un rango de pH entre 4,0 y 8,7. En general, no se presentaron grandes diferencias para los valores de estas constantes ni entre extractantes, ni entre ácidos húmicos y fúlvicos.

En el intervalo de pH entre 4,0 y 5,4 se tituló el primer grupo ácido que corres-

ponde a un grupo ácido carboxílico Ceppi y cols. (13), el segundo grupo ácido carboxílico se tituló entre pH 5,8 y 6,1 de carácter un poco menos ácido; la presencia de estos grupos se corroboró con el análisis elemental y con los resultados de la capacidad de intercambio catiónico que evidenció la presencia de aniones en la fracción extractable. El rango de pH en que se encontraron estas constantes es característico de ácidos carboxílicos que presentan pocas interacciones intramoleculares por puentes de hidrógeno, lo que disminuye la fuerza ácida del grupo y aumenta su  $pK_a$ . El tercer grupo se tituló entre pH 7,2 y 7,6 que es característico de mezclas de grupos fenólicos fuertes y/o ácidos carboxílicos muy débiles. Finalmente, entre pH 8,5 y 8,6 se tituló un grupo que posiblemente corresponde a  $-OH$  fenólico (11).

En cuanto al comportamiento ácido-base de los ácidos húmicos y fúlvicos de los dos suelos se encontró que los valores de la primera constante de ionización  $pK_{a1}$  evidenciaron en algunos casos el carácter más ácido de los fúlvicos extraídos con tetraborato e hidróxido.

Con los datos obtenidos de la titulación potenciométrica y el valor de pH de cada uno de los suelos estudiados (Tablas 1 y 5) se puede afirmar que dentro de los grupos ácidos mencionados, los que se encuentran disociados en su medio natural son los carboxílicos por tener un  $pK_a$  menor o igual al pH del suelo, siendo para los suelos bajo bosque y bajo caña de azúcar de 6,7 y de 6,4, respectivamente. Esta disociación permite establecer una interacción entre las sustancias húmicas y los componentes minerales del suelo; es posible que en

ambos horizontes se promueva la formación de complejos órgano-arcillosos que actúen como agentes cementantes en los microagregados del suelo. En general se notó que la cantidad de grupos ácidos ionizables a pH mayor de 7,0 en los ácidos húmicos y fúlvicos de ambos horizontes del suelo resultó bastante pequeña.

### Acidez total de ácidos húmicos y fúlvicos

De acuerdo con la Tabla 5, de los cuatro grupos ionizables se encuentran en mayor proporción los correspondientes a la primera ionización de los grupos ácido carboxílico, especialmente extraídos con pirofosfato.

**Tabla 5.** Potenciometría ácido-base y concentración de grupos ionizables de ácidos húmicos y fúlvicos provenientes de la extracción secuencial\*

		HORIZONTE Ap MOLLISOL BAJO CAÑA DE AZÚCAR								
Ácido	Extractante	Potenciometría ácido-base Constantes de acidez				**Concentración promedio de grupos titulables				** Acidez total
		pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	pKa <sub>4</sub>	C1	C2	C3	C4	
AF	Tetraborato de sodio	5,18	6,00	7,62	8,55	5,96	5,54	0,23	0,99	12,41
	Pirofosfato de sodio	5,42	5,92	7,52	8,52	11,80	3,22	0,09	0,36	10,74
	Hidróxido de sodio	4,10	6,50	7,60	8,61	6,40	5,20	1,08	0,21	11,43
AH	Tetraborato de sodio	4,63	5,70	7,25	8,55	6,59	0,55	1,44	0,26	11,80
	Pirofosfato de sodio	5,20	5,92	7,28	8,53	6,53	0,23	1,78	1,22	10,82
	Hidróxido de sodio	5,09	5,94	7,40	8,61	10,35	0,13	0,86	0,52	10,08
		HORIZONTE A MOLLISOL BAJO BOSQUE								
Ácido	Extractante	Potenciometría ácido-base Constantes de acidez				**Concentración promedio de grupos titulables				** Acidez total
		pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	pKa <sub>4</sub>	C1	C2	C3	C4	
AF	Tetraborato de sodio	4,02	6,08	7,56	8,53	5,60	5,70	0,60	0,51	12,72
	Pirofosfato de sodio	5,07	6,14	7,56	8,62	7,91	1,79	1,04	0,03	15,47
	Hidróxido de sodio	4,40	6,11	7,47	8,47	5,50	4,32	1,45	0,16	12,89
AH	Tetraborato de sodio	4,00	6,10	7,30	8,59	6,90	2,70	0,70	1,50	8,84
	Pirofosfato de sodio	5,06	5,90	7,28	8,52	8,90	1,54	0,07	0,31	9,76
	Hidróxido de sodio	5,04	5,85	7,27	8,57	7,80	1,05	0,81	0,42	11,86

\* Los resultados son el promedio de dos réplicas.

\*\* Acidez total y concentración promedio expresada en mmol grupos titulables/g de ácido.

El carácter ácido de los ácidos fúlvicos se da por la abundancia de los dos grupos carboxílicos correspondientes a la primera y segunda constantes de disociación, mientras que el de los húmicos se debe, principalmente, a la primera constante de disociación. Los resultados llevan a pensar que los ácidos húmicos están compuestos por grupos ácidos más homogéneos, lo que puede ser producto de los procesos evolutivos que han sufrido; por el contrario, los ácidos fúlvicos, al tener grupos carboxilos fuertes y débiles, serían sustancias más susceptibles de sufrir procesos de transformación.

Para las sustancias húmicas de ambos horizontes del suelo se obtuvieron valores de acidez total muy parecidos, lo que demuestra que a través de los procesos de humificación se pueden estar dando transformaciones que cambian la clase de ácidos, pero que no producen la pérdida neta de acidez.

## CONCLUSIONES

- Se encontró que en la fracción menor a 2 mm de los horizontes A bajo bosque y Ap bajo caña de azúcar predomina la fracción menor a 50 m que se caracteriza por contener mayor C.I.C y sustancias húmicas extractables.
- Los resultados mostraron mayor presencia de sustancias húmicas unidas al componente mineral, extractables con pirofosfato de sodio, y en éste se evidenció una mayor cantidad de ácidos húmicos que de fúlvicos.
- En los dos horizontes la relación de polimerización AH/AF en el extracto de hidróxido fue la más baja, lo que in-

dica mayores tamaños moleculares y mayor carácter aromático de los ácidos húmicos en relación con los fúlvicos; esto se corroboró con la relación  $E_4/E_6$  y los valores de C/H en el análisis elemental.

- En ambos casos se obtuvieron relaciones menores de C/N para los ácidos húmicos extraídos con hidróxido de sodio; sin embargo, no se encontraron diferencias marcadas para la relación C/O en los diferentes extractantes, lo que muestra poca diferencia en su grado de acidez.
- La titulación potenciométrica y el uso de las funciones de Gran modificadas evidenciaron cuatro constantes de ionización para los ácidos húmicos y fúlvicos, con presencia de grupos carboxilo y/o fenoles; entre ellos se determinó que la concentración de los primeros fue mayor..
- No se encontraron diferencias marcadas entre el comportamiento ácido-base de ácidos húmicos y fúlvicos entre sí, ni entre extractantes, a excepción de los ácidos fúlvicos de ambos horizontes extraídos con hidróxido de sodio, donde se evidenció con la primera constante de ionización el mayor carácter ácido de los ácidos fúlvicos con respecto al de los ácidos húmicos.
- Las sustancias húmicas del suelo bajo caña de azúcar presentaron características similares, sin importar el tipo de extractante, contrario a lo mostrado por el suelo bajo bosque donde los ácidos húmicos y fúlvicos presentan características determinadas y diferenciables. Esto lleva a pensar que su dinámica se rige por los procesos evo-

lutivos del suelo que determinan el entorno químico del mismo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló con la colaboración del Laboratorio Nacional de Suelos del Instituto Geográfico Agustín Codazzi, dentro del proyecto cofinanciado por Colciencias, "Estudio de las sustancias húmicas en Andisoles y Mollisoles de Colombia desarrollados bajo ambientes ecológicos diferentes".

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kononova, M., *Materia orgánica del suelo. Su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Traducido por Enriqueta Bordas, primera edición en lengua castellana. Barcelona: Oikos Tau, 1982.
2. Schnitzer, M., *Organic Matter characterization*. In: *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. Madison Winsconsin, U.S.A. 1971.
3. Stevenson, F. J., *Humus chemistry, genesis, composition, reactions*. Department of Agronomy, University of Illinois, John Wiley & Sons. 1982.
4. Masini, J., Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids. *Analytica Chimica Acta* 364, 223-233.
5. Masini, J., Evaluation of neglecting electrostatic interactions on the determination and characterization of the ionizable sites in humic substances. *Analytica Chimica; Acta* 283: 803-810. 1993.
6. Masini, J., The use of linear potentiometric titration curves in the determination of alkalinity and acid-base properties of diluted solutions of humic substances. *Talanta* 1994; 41(8):1383-1389.
7. Marinsky, J.A., Ephraim, J., A unified physicochemical description of the protonation and metal ion complexation equilibria of natural organic acids (humic and fulvic acids). I. Analysis of the influence of polyelectrolyte properties on protonation equilibria in ionic media: fundamental concepts. *Environ. Sci. Technol.* 1986; 20:349-354.
8. Tipping, E., Reddy, M. M., Hurley, M. A., Modeling electrostatic and heterogeneity effects on proton dissociation from humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 1990; 24:1700-1705.
9. Fiol, S., Lopez, R., Ramos, A., Antelo, J. M., Arce, F. Study of the acid - base properties of three fulvic acids extracted from different horizons of a soil. *Analytica Chimica Acta* 1999; 385:443-449.
10. Esteves Da Silva, J., Machado, A., Silva, C., Acid-base properties of fulvic acids extracted from an untreated sewage sludge and from composted sludge. *Was. Res.* 1998 32(2): 441-449.
11. Esteves Da Silva, J., Machado, A., Silva, C., Simultaneous use of evolving factor analysis of fluorescence

- spectral data and analysis of pH titration data for comparison of the acid-base properties of fulvic acids. *Analytica Chimica Acta*. 1996; *Acta* **318**:365-372.
12. Pehrsson, I., Ingman, F., Johansson, A., Acid-base titrations by stepwise additions of equal volumes of titrant with special reference to automatic titrations-I. Theory, discussion of the Gran functions, the Hofstee method and two proposed methods for calculating equivalence volumes. *Talanta* 1976; **23**:769-780.
  13. Ceppi, S., Velasco, M., de Pauli, C., Differential scanning potentiometry: surface charge development and apparent dissociation constants of natural humic acids. *Talanta*. 1999; **50**:1057-1063.
  14. Aleixo, L.M., Potentiometric study of acid-base properties of humic acid using linear functions for treatment of titration data. *Analytica Chimica* 1992; *Acta* **257**:35-39.
  15. Seymour, J.W., Clayton, jr., Quintus, F., Determination of pKa values of acid components in atmospheric condensates by linearization of segmented titration curves. *Analytical Chemistry*. 1977; August **49**.
  16. Malagón, D., et al., Suelos de Colombia. Origen, evolución, clasificación, distribución y uso., Santafé de Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi 1995.
  17. Dávila, J., Caracterización preliminar de ácidos fúlvicos de dos suelos colombianos (Andisol del Cauca y Oxisol del Amazonas). Trabajo de grado, Departamento de Química, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia. 2002.
  18. IGAC., Métodos analíticos de laboratorio de suelos, Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Subdirección de Agrología, Bogotá D. E. 1990; pp. 467-470, 482.
  19. Kumada, K., Chemistry of soil organic matter. Developments in soil science 17. Japan Scientific Societies Press, Tokyo: Elsevier 1987.
  20. Zamudio, A., Caracterización fisicoquímica de los ácidos húmicos en suelos representativos de las zonas de Puerto Nariño y Tarapacá en: Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial del trapezoidal amazónico INPA III. Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Subdirección de Agrología, 2003.
  21. Duchaufour, P., Manual de edafología. Versión española de Carballas. Barcelona: Masson 1975.
  22. Godinho, O. E. S., Aleixo, L.M., Characterization and determination of titratable groups of proteins by linearization of titration curves. *Analytical Biochemistry*. 1998; **112**: 323-328.