

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE
HUMINAS DE UN SUELO ANDISOL DEL
DEPARTAMENTO DEL CAUCA**

BERTHA ILSE MUÑOZ PIAMBA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES,
EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2004**

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE
HUMINAS DE UN SUELO ANDISOL DEL
DEPARTAMENTO DEL CAUCA**



Universidad
del Cauca

BERTHA ILSE MUÑOZ PIAMBA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES,
EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN**

2004

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE
HUMINAS DE UN SUELO ANDISOL DEL
DEPARTAMENTO DEL CAUCA**

BERTHA ILSE MUÑOZ PIAMBA

**Trabajo de Grado Presentado como Requisito Parcial
Para Optar al Título de Química**

Directora: ISABEL BRAVO R. M.Sc

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES,
EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN**

2004

Nota de Aceptación

Directora: Isabel Bravo R. M.Sc

Jurado: Dr. Jaime Martín F.

Jurado: German Cuervo M.Sc

Fecha de Sustentación: Popayán, Agosto 20 de 2004

DEDICATORIA

A mis padres, Bertha Piamba y Bolivar Muñoz. Su Amor y Apoyo total fueron indispensables. Gracias a sus esfuerzos y sacrificios he terminado esta etapa de mi vida.

A mi hermano, Alexander Muñoz. Fue el ángel que guió el camino a seguir en mi vida profesional.

AGRADECIMIENTOS

A esa Luz Inmensa de la naturaleza llamada DIOS por haber iluminado mi ser interior y el camino que recorro día a día.

A mis Padres por su infinito amor, comprensión y apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida.

A mi Familia por acogerme siempre y darme su calor.

A la profesora Isabel Bravo por sus muy valiosas enseñanzas académicas y personales, además por su dirección en la elaboración de este trabajo.

A Rodolfo, su cariño ha dejado huella en mí.

A mis amigos, quienes me permiten ser.

A los profesores del Departamento de Química y al Grupo de Agroquímica cada uno hizo aportes importantes en mi formación profesional.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
2. JUSTIFICACION	19
3. OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GENERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. FUNDAMENTO TEORICO	23
4.1 SUELOS ANDISOLES	24
4.2 MATERIA ORGÁNICA	26
4.2.1 Evolución de los Constituyentes Orgánicos	27
4.2.1.1 Transformación Química Inicial	28
4.2.1.2 Acumulación y Destrucción Mecánica	28
4.2.1.3 Alteración Química	28
4.3 COMPLEJOS ÓRGANOMINERALES	32
4.3.1 Suelos Neutros, Aireados y Biológicamente Activos	32
4.3.2 Suelos Ácidos y Biológicamente poco Activos	32
4.4 PROPIEDADES DE LA MATERIA ORGÁNICA	33
4.4.1 Propiedades Físicas	33
4.4.2 Propiedades Químicas	34
4.4.3 Propiedades Biológicas	34
4.5 COMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA	35
4.5.1 Ácidos Húmicos	36
4.5.2 Ácidos Fúlvicos	37
4.5.3 Huminas	37

4.5.3.1 Humina de herencia o residual	38
4.5.3.2 Humina de insolubilización	39
4.5.3.3 Humina microbiana	39
4.5.3.4 Humina evolucionada por maduración	39
4.6 PURIFICACION DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS	40
4.7 CARACTERIZACION DE LA FRACCION INSOLUBLE	
HUMINA	42
4.7.1 Métodos físicos	42
4.7.2 Métodos químicos	42
5. METODOLOGÍA	44
5.1 UBICACIÓN GEOGRAFICA	44
5.2 ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS DE LA MUESTRA DE	
SUELO	45
5.2.1 Determinación de textura	45
5.2.2 Determinación de humedad	45
5.2.3 Determinación de pH	45
5.2.4 Determinación de materia orgánica	46
5.2.5 Determinación de nitrógeno	46
5.2.6 Determinación de acidez intercambiable	48
5.2.7 Determinación de capacidad de intercambio catiónico y bases de cambio	48
5.2.8 Determinación de fósforo	49
5.2.9 Determinación de elementos menores	50
5.3 FRACCIONAMIENTO DE LA MATERIA ORGANICA	
DEL SUELO	50
5.3.1 Separación de la materia orgánica no humificada de la fracción humificada	50
5.3.1.1 Análisis químico de las fracciones de materia orgánica	

obtenidas por el método granulométrico y densimétrico	54
5.3.2 Separación y cuantificación de humina heredada	54
5.3.3 Extracción de la fracción humina a partir de los complejos orgánico – minerales	56
5.3.4 Separación de ácidos húmicos y fúlvicos	58
5.4 FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCION HUMINA	59
5.4.1 Extracción de los componentes de la fracción humina	59
5.5 PURUFICACION DE LAS FRACCIONES DE HUMINA DE INSOLUBILIZACION EXTRAIBLE Y HUMINA UNIDA AL HIERRO	62
5.5 CARACTERIZACION DE LA FRACCION HUMINA	65
6. ANALISIS DE RESULTADOS	66
6.1 ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS DEL SUELO ANDISOL	67
6.2 SEPARACION DE LA MATERIA ORGANICA FRESCA DE LA FRACCION HUMIFICADA	70
6.2.1 Separación mediante metodología granulométrica	70
6.2.2 Separación mediante metodología densimétrica	71
6.3 ANALISIS QUIMICO DE LA FRACCIONES SEPARADAS	72
6.3.1 Método granulométrico	72
6.3.2 Método densimétrico	74
6.4 SEPARACION Y CUANTIFICACION DE HUMINA HEREDADA	75
6.4.1 Análisis químico de humina heredada	77
6.5 SEPARACION DE HUMINA A PARTIR DE COMPLEJOS ORGANICO MINERALES	79
6.5.1 Separación de ácidos húmicos y fúlvicos	81

6.6 EXTRACCION DE LO COMPONENTES DE LA FRACCION HUMINA	85
6.6.1 Humina unida al hierro, humina de insolubilización extraíble y humina de insolubilización no extraíble	86
6.6.2 Humina de insolubilización no extraíble	90
6.7 PURIFICACION DE LA HUMINA UNIDA AL HIERRO Y DE LA HUMINA EXTRAIBLE	92
6.8 CARACTERIZACION DE LA FRACCION INSOLUBLE HUMINA	95
6.8.1 Relación E_4/E_6 para las diferentes fracciones de humina separadas	95
6.8.2 Análisis elemental de las fracciones de humina extraídas	97
6.8.3 Análisis IR para las distintas fracciones de huminas separadas	101
6.8.3.1 Espectros IR las fracciones humina heredada y humina	101
6.8.3.2 Espectro IR para la fracciones de humina unida al hierro y humina de insolubilización extraíble	105
6.8.3.3 Espectro IR para la fracción humina de insolubilización no extraíble	109
7. CONCLUSIONES	112
BIBLIOGRAFÍA	115

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Análisis físicos y químicos del suelo Andisol	67
Tabla 2. Distribución de fracciones de acuerdo con el método granulométrico	71
Tabla 3. Distribución de fracciones de acuerdo con el método densimétrico	72
Tabla 4. Análisis físicos y químicos de las fracciones separadas por granulometría	73
Tabla 5. Análisis físico y químico de las fracciones de materia orgánica separadas por densimetría	74
Tabla 6. Porcentaje de humina heredada extraída	76
Tabla 7. Análisis químico de humina heredada	78
Tabla 8. Análisis químico y porcentaje final obtenido para la humina extraída	80
Tabla 9. Efecto del extractante sobre el porcentaje de carbono de ácidos húmicos y porcentaje de carbono de fracción fúlvica para el Andisol extraído por granulometría	82
Tabla 10. Efecto del extractante sobre el porcentaje de carbono de ácidos húmicos y porcentaje de carbono de fracción fúlvica para el Andisol extraído mediante método densimétrico	84
Tabla 11. Porcentaje de carbono para las fracciones de humina extraídas a partir de humina separada por granulometría	87
Tabla 12. Porcentaje de carbono para las fracciones de humina extraídas a partir de humina separada por	

densimetría	89
Tabla 13. Propiedades químicas para la fracción humina de insolubilización no extraíble	91
Tabla 14. Resultados de la purificación secuencial de la humina unida al hierro y humina extraíble. Ácidos fúlvicos	93
Tabla 15. Resultados de la purificación secuencial de la humina unida al hierro y humina extraíble. Ácidos húmicos	94
Tabla 16. Relación E ₄ /E ₆ para humina extraíble y humina unida al hierro	96
Tabla 17. Composición elemental CHN y S para las diferentes fracciones de humina	97

LISTA DE FIGURAS

	Pag
Figura 1. Ciclo de la materia orgánico en el suelo.	30
Figura 2. Síntesis del humus y de sus ácidos característicos.	31
Figura 3. Distribución de los constituyentes orgánicos del suelo.	36
Figura 4. Método densimétrico para separación de materia orgánica humificada.	52
Figura 5. Método granulométrico para separación de materia orgánica humificada.	53
Figura 6. Extracción de humina heredada.	55
Figura 7. Separación de la fracción humina.	57
Figura 8. Separación de ácidos húmicos y fúlvicos.	58
Figura 9. Separación de los componentes de la fracción humina.	60
Figura 10. Purificación residuo de humina extraíble y humina unida al hierro.	63
Figura 11. Purificación sobre nadante de humina de insolubilización extraíble y humina unida al hierro.	64
Figura 12. Análisis físicos y químicos de las fracciones separadas por granulometría.	73
Figura 13. Análisis físico y químico de las fracciones de materia orgánica separadas por densimetría.	74
Figura 14. Porcentaje de humina heredada extraída.	76
Figura 15. Análisis químico de la humina heredada.	78
Figura 16. Análisis químico y porcentaje final de humina extraída.	80
Figura 17. Efecto del extractante sobre el porcentaje de carbono de ácidos húmicos y porcentaje de carbono de fracción	

fúlvica para el Andisol extraído por granulometría.	82
Figura 18. Efecto del extractante sobre el porcentaje de carbono de ácidos húmicos y porcentaje de carbono de fracción fúlvica para el Andisol extraído por densimetría.	84
Figura 19. Porcentaje de carbono para fracciones de humina extraídas a partir de humina separada por granulometría.	87
Figura 20. Porcentaje de carbono para las fracciones de humina extraídas a partir de humina separada por densimetría.	89
Figura 21. Propiedades químicas para la fracción humina de insolubilización no extraíble.	91
Figura 22. Espectro IR para la fracción humina heredada.	102
Figura 23. Espectro IR para la fracción humina.	102
Figura 24. Espectro IR para la fracción humina unida al hierro.	105
Figura 25. Espectro IR para la fracción humina de insolubilización extraíble.	106
Figura 26. Espectro IR para la fracción humina de insolubilización no extraíble.	109

ACRONIMOS

AF	Ácidos Fúlvicos
AH	Ácidos Húmicos
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
CE	Carbono Extraíble
CAH	Carbono de Ácidos Húmicos
CAF	Carbono de Ácidos Fúlvicos
CFF	Carbono de Fracción Fúlvica
FF	Fracción Fúlvica
DMSO	Dimetilsulfoxido
DTPA	Ácido Etilendiaminotretacético
IR	Infrarrojo
MO	Materia Orgánica
MOF	Materia Orgánica Fresca
MOH	Materia Orgánica Humificada

INTRODUCCIÓN

La Materia Orgánica es uno de los constituyentes más importantes del suelo, y es bien conocido que la fertilidad de éste, depende en gran parte, de su contenido y características. Está constituida por diferentes fracciones entre las cuales se encuentran: Los ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y las huminas.

La Materia Orgánica interactúa con materiales inorgánicos principalmente Aluminosilicatos, que forman un compuesto órgano-mineral conocido como Humina, predominante en la materia orgánica del suelo, y que comprende del 50 – 80% de esta fracción. La humina se define como la fracción de la Materia Orgánica insoluble en solución acuosa a cualquier pH. Los componentes orgánicos de la fracción humina son conocidos por tener una superficie activa importante en la adsorción superficial de los contaminantes orgánicos. Además, debido a su insolubilidad, son adsorbentes primarios de muchos compuestos, tales como insecticidas, funguicidas, herbicidas etc. Las Huminas adsorben más plaguicidas que otras fracciones del suelo, teniendo significado muy importante para el medio ambiente, cuando evitan que evitan los compuestos orgánicos contaminantes pasen a la solución del suelo, se lixivien o vayan a la atmósfera, previniendo de esta manera la contaminación, la pérdida de bioestructura del suelo y por lo tanto su erosión.

Muchas reacciones en el suelo comúnmente se correlacionan con las propiedades químicas de las huminas. No obstante, la estructura de estos materiales no ha sido ampliamente estudiada conociéndose muy poco acerca de la manera precisa en que el material orgánico se enlaza a la superficie mineral.

Para entender la interacción de la fracción humina en un sistema natural es necesario conocer su estructura, ya que en la interfase materia orgánica/medioambiente es donde se da inicio a las reacciones químicas con los compuestos orgánicos contaminantes que llegan al suelo. De esta manera es posible conocer los sitios reactivos o accesibles a cualquier sorbato potencial.

La mayor parte de los suelos del Departamento del Cauca son ácidos debido a su origen y manejo, con apreciables contenidos de materia orgánica y en donde se usan toda clase de plaguicidas para proteger los cultivos. Por esto es indispensable estudiar la acumulación, permanencia o degradación de estos en el suelo; y para ello es necesario extraer y analizar primero las huminas. Con este trabajo se pretende implementar un método apropiado para extraer huminas de un suelo tipo Andisol del Departamento del Cauca, y caracterizarlas preliminarmente usando técnicas espectroscópicas y analíticas.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las sustancias húmicas son estructuralmente diversas, generadas a partir de amplia variedad de reacciones biogénicas y abióticas. Presentan heterogeneidad en la composición elemental, funcionalidad química y distribución del tamaño molecular. Las huminas forman enlaces cruzados con matrices minerales o iones inorgánicos, y una gran tendencia a agregarse, aumentando así sus propiedades coloidales.

La complejidad de las propiedades que presentan las sustancias húmicas es el mayor obstáculo para su caracterización estructural y esto a su vez impide un mayor entendimiento molecular de su funcionamiento en el medio ambiente, incluyendo su papel en el crecimiento de las plantas, la nutrición mineral, la simbiosis microbio-planta, el metabolismo microbiano, la nutrición orgánica, la formación de los agregados del suelo, como también el transporte de los nutrientes y la bioaprovechabilidad de los mismos.

La humina es una fracción que constituye más del 50% de la materia orgánica, sin embargo es la fracción menos estudiada de las sustancias húmicas, debido a la dificultad para su extracción, purificación y solubilización que impiden determinar su composición química y su estructura.

El Departamento del Cauca es una zona altamente productora de café, su suelo posee un alto contenido de materia orgánica; sin embargo la utilización de plaguicidas para controlar las diferentes plagas que atacan este cultivo, ha hecho necesario evaluar su persistencia en el suelo; pero para ello se debe primero implementar una metodología que permita extraer y caracterizar las huminas, ya que es en esta fracción en donde estos compuestos se

adsorben con mayor facilidad. Hasta ahora se han hecho estudios tendientes a extraer y caracterizar ácidos húmicos y fúlvicos de suelo, pero no se encuentran estudios relacionados con la fracción humina de esta región del tipo de suelo elegido.

2. JUSTIFICACIÓN

Restos vegetales de toda naturaleza; hojas, ramas muertas que caen sobre el suelo y residuos de animales, constituyen la fuente esencial de la materia orgánica; desde su llegada al suelo, son descompuestos más o menos rápidamente por la actividad biológica. La materia orgánica fresca es así transformada poco a poco, dando lugar, por una parte, a sustancias minerales solubles o gaseosas (NH_3 , HNO_3 , CO_2) y por otra, a complejos coloidales (humus) que son relativamente estables y resistentes a la acción microbiana; estos compuestos húmicos se mineralizan a su vez, pero mucho más progresivamente que la materia orgánica fresca. (1)

Las sustancias húmicas se clasifican teniendo en cuenta su solubilidad en diferentes solventes; así aparecen tres grupos: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas. Estas últimas representan la fracción insoluble en soda y ácido, de acuerdo al método clásico de fraccionamiento del humus. (2,3)

Las propiedades de las sustancias húmicas se pueden determinar solamente cuando éstas se encuentran en estado libre, es decir, libres de materiales inorgánicos; por lo tanto para estudiar sus componentes lo primero que se debe hacer es separar la materia orgánica de la parte mineral del suelo.

La extracción con solución de NaOH (0.1-0.5 N en relación 1:2 a 1:5, suelo-solución) ha sido ampliamente usada para extraer la materia orgánica del suelo, siendo necesario realizar varias extracciones para alcanzar el máximo de recuperación. El tratamiento con HCl sirve para remover Calcio y otros cationes polivalentes incrementándose así la eficiencia de la extracción realizada con agentes alcalinos. Se reportan varias desventajas de la

extracción directa con álcali, porque las soluciones alcalinas disuelven la sílica de la materia mineral y los componentes estructurales y protoplasmáticos de los tejidos, lo cual contamina la fracción orgánica separada por la extracción. También, bajo condiciones alcalinas ocurre la autoxidación de algunos constituyentes orgánicos, debido a que el extractante entra en contacto con el aire. Además se pueden dar otros cambios químicos, tales como la condensación entre aminoácidos y aldehídos o quinonas. (4,5)

Por estas razones, hoy en día muchos investigadores utilizan una secuencia de diferentes extractantes para el fraccionamiento de la materia orgánica, en la cual se usan primero extractantes suaves tales como el Pirofosfato de Sodio, Tetraborato de Sodio etc. y luego la extracción con NaOH. (6)

Los extractantes suaves como el Pirofosfato de Sodio, forman complejos de coordinación con los cationes polivalentes Calcio, Hierro y Aluminio, los cuales son responsables de mantener la materia orgánica en estado floculado e insoluble; activándola, para solubilizarla.

Con este método la cantidad de materia orgánica que se recupera es baja (Menos del 30%), considerablemente menor a la extraída Con NaOH, pero se logra menos alteración de la conformación química del material húmico, ya que la extracción debe ocurrir a pH neutro. (7)

Los métodos reportados para separar huminas de la materia orgánica de diferentes tipos de suelo varían de acuerdo al extractante, sin embargo, cada uno de ellos reporta un nivel de extracción muy diferente. Por ejemplo, en el método de extracción que utiliza HCl/HF, el nivel de recuperación es del 35-86%, mientras que la extracción con dimetilsulfoxido (DMSO) presenta un nivel de recuperación del 9-22%. (8)

En la revisión hecha no se encuentra un método para la extracción de huminas en suelos Andisoles del Departamento del Cauca, por eso se propone encontrar una metodología apropiada para dicha extracción apoyándose en los métodos reportados en la literatura.

Se espera con este conseguir la extracción de la fracción humina de este tipo de suelo y que pueda ser extendido a otros tipos de suelo de la región con el objeto de evaluar las diferentes fracciones del humus, su grado de humificación y hacer estudios relacionados con la adsorción, retención y biodegradabilidad de pesticidas y plaguicidas en general, ya que en las zonas referidas se están utilizando sustancias que pueden contaminar el suelo y el ecosistema, cuando no existe una materia orgánica humificada que logre atrapar dichos compuestos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Desarrollar una metodología eficiente para la extracción y caracterización preliminar de la fracción húmica de un suelo Andisol del Departamento del Cauca.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener y fraccionar la Materia Orgánica de un suelo Andisol.
- Separar los constituyentes de la fracción Húmica.
- Extraer con diferentes extractantes y analizar preliminarmente las huminas de la fracción húmica.

4. FUNDAMENTO TEÓRICO

El suelo es un sistema muy complejo. En un volumen determinado coexisten tres fases, una sólida, otra líquida, y otra gaseosa en estrecho equilibrio.

La fase sólida puede ser mineral u orgánica. La porción mineral está compuesta por partículas de formas, tamaños y composición muy diversos. La fracción orgánica abarca desde organismos en estado de vida activa hasta residuos vegetales y animales en diferentes estados de descomposición.

La fase sólida que es la que predomina, está rodeada de películas acuosas que forman la fase líquida. La fase gaseosa ocupa el espacio de poros entre las partículas de suelo que no están llenas de agua. (9)

Los suelos se forman generalmente por la meteorización de materiales rocosos. Este proceso implica un ataque físico (fragmentación) y químico (disolución y transformación) de la roca madre. La acción del agua, del viento y de los seres vivos, es constante sobre la parte más superficial de las rocas y produce modificaciones en las mismas. Estas modificaciones, que como hemos dicho, pueden ser de carácter físico y químico alcanzan profundidades cada vez mayores, y algunos suelos que han empezado a formarse hace poco, pueden tener apenas unos centímetros de espesor, mientras que otros más antiguos pueden alcanzar algunos metros.

El grado de alteración de la roca madre y las características físicas y químicas del suelo pueden variar en dirección vertical y horizontal. Estas variaciones permiten observar en cualquier perfil o corte del terreno, una

serie de capas de distinto aspecto, llamadas horizontes del suelo, que se definen como volúmenes pedológicos más o menos paralelos a la superficie de la tierra.

Un horizonte se describe por la presencia de uno o más tipos de ensambles y por la relación entre ellos. También se describen por su espesor, por su extensión lateral, y por sus límites morfológicos vertical y lateral. A escala de paisaje, los horizontes nunca son infinitos; lateralmente desaparecen o se funden en otro horizonte.

Los tipos de suelos se definen de acuerdo a la combinación vertical de horizontes que se presentan dentro de una profundidad definida, por la organización lateral de los mismos, o por su ausencia; a escala que refleje el relieve o una unidad de tierra. (10, 11)

En La actualidad cuatro conjuntos de criterios pueden utilizarse para clasificar los suelos, caracterizarlos y hacer propuestas sobre su utilización: **los constituyentes minerales y los constituyentes orgánicos**; entendidos más allá de su fraccionamiento. **La expresión objetiva de los horizontes**, incluyendo los denominados de “diagnostico” y, por ultimo, **la asociación de las condiciones del medio**, mediante sistemas, clasificaciones o listados bien definidos y validados. (12)

4.1 SUELOS ANDISOLES

Los Andisoles colombianos están ampliamente distribuidos en la Región Andina del país, especialmente en la cordillera Central. En las cordilleras Occidental y Oriental también se presentan pero, comparativamente con la Central, en menor proporción. Las características generales y dominantes del

medio natural donde se presentan estos suelos están influenciadas por la presencia de cenizas volcánicas, especialmente en aquellas zonas muy húmedas y pluviales, que constituyen pisos altitudinales que varían entre el Premontano (24°C) hasta el Montano (6-12 °C) y donde los regímenes de humedad del suelo son muy altos. Los materiales orgánicos se presentan en cantidades muy altas (1.5 - 6% de C.O). La erosividad varía de acuerdo con las cordilleras, predominando la media y alta en la Central y occidental y las muy bajas en la Oriental.

El material parental predominante de los Andisoles del país es el piroclástico y, fundamentalmente, el de las cenizas volcánicas.

La transformación mineral se centra fundamentalmente, en la alteración de los materiales vítreos a alófanos con tendencia a aquellas de bajo grado de ordenamiento, dado que la gibsita e imogolita son muy escasas. El resultado de este proceso se constata en su morfología caracterizada por manifestar horizontes A espesos (30 - 50 cm. aproximadamente), color pardo a pardo amarillento, estructura grumosa y granular fina, alta porosidad total, densidades aparentes bajas, estabilidad estructural alta, permeabilidad y movimiento del agua altos por lo cual las pérdidas de elementos también lo son, altos contenidos de materiales orgánicos que tienden a favorecer la formación de complejos Al-humus.

Dentro de las características químicas resaltan los valores de pH ácidos y ligeramente ácidos, las bajas saturaciones de bases, las altas capacidades de Intercambio, la alta retención fosfórica, al igual que los valores altos en materiales orgánicos, con dominancia de compuestos de bajo grado de polimerización y abundantes huminas.

Las características y propiedades de los Andisoles y su localización, muchas veces en condiciones de pendientes pronunciadas y alta humedad, los hace susceptibles a la degradación estructural y a la erosión en sus diferentes manifestaciones, en especial cuando se ha eliminado la cobertura del bosque o el sombrío en los cafetales. (12, 13, 14, 36)

Otros tipos de suelos pueden clasificarse bajo parámetros similares a los Andisoles, tales como los Podsoles o los Inceptisoles, Sin embargo se han establecido criterios físicos, químicos y de campo seguros para diferenciarlos, aparte de la evidencia derivada de la geografía del área. (15)

4.2 MATERIA ORGÁNICA

La materia orgánica y su producto coloidal de síntesis biológica, el humus, constituyen la fracción orgánica del suelo, incluyendo a los macro, meso y microorganismos. Los residuos orgánicos, de cualquier naturaleza, llegan o están en el suelo y en su superficie e inician un proceso de mineralización, lento o rápido, en función de sus componentes, acción biológica de la fauna y flora edáfica, características climáticas y podológicas.

El humus esta asociado a productos de muy diversa composición y evolución, pero resultantes de síntesis biológica o maduración climática y con características coloidales; su acción en el suelo es múltiple e incluye aspectos de fertilidad, estabilidad estructural, regulación de la temperatura, capacidad de intercambio, acciones biológicas variadas y dinámica de elementos.

Los componentes más abundantes de la materia orgánica son las celulosas, las hemicelulosas y la lignina. La estructura y composición de estas sustancias influye sobre su facilidad de alteración, al igual que sobre los productos resultantes de ella.

Los constituyentes orgánicos normalmente se presentan en cantidades muy inferiores a la fracción mineral, no obstante su papel es muy importante, para la evolución y las propiedades de los suelos.

La distribución de la materia orgánica en los suelos de Colombia varía de acuerdo a la región del país sometida a estudio. Así por ejemplo, la Región Andina presenta una gama variada de climas, materiales parentales y relieves, por tanto los contenidos de materia orgánica dependen de ella. En las áreas donde priman los suelos Andisoles, el presupuesto del componente orgánico es muy alto a causa del complejo duradero y resistente entre las alófanas y las sustancias húmicas provenientes de la síntesis de los compuestos orgánicos, o del complejo Al-humus. (36)

4.2.1 Evolución de los Constituyentes Orgánicos. La transformación de la materia orgánica puede llegar a la mineralización total de los compuestos orgánicos dando lugar a productos inorgánicos sencillos como CO_2 , NH_3 , H_2O , etc.

La humificación es responsable de la acumulación de la materia orgánica en el suelo mientras que la mineralización conduce a su destrucción.

En la transformación de los restos orgánicos se pueden diferenciar tres etapas sucesivas.

4.2.1.1 Transformación Química Inicial. Es una alteración que sufren los restos vegetales antes de caer al suelo. Las hojas son atacadas por los microorganismos, en el mismo árbol, y se producen importantes transformaciones en su composición y estructura. Consiste en pérdida de sustancias orgánicas y elementos minerales como P, N, K, Na.

4.2.1.2 Acumulación y Destrucción Mecánica. La hojarasca, ramas, tallos, etc. se acumulan sobre el suelo y se van destruyendo mecánicamente, fundamentalmente por la acción de los animales que reducen su tamaño, lo mezclan con la fracción mineral y lo preparan para la posterior etapa.

4.2.1.3 Alteración Química. En esta etapa se produce una intensa transformación de los materiales orgánicos y su mezcla e infiltración en el suelo. Los restos orgánicos en el suelo pierden rápidamente su estructura celular y se alteran a un material amorfo que va adquiriendo un color cada vez más negro, con una constitución y composición absolutamente distintos de los originales. Poco a poco los restos transformados se van desintegrando, difuminándose en el suelo y finalmente se integran totalmente con la fracción mineral, formando parte íntima del plasma basal del suelo.

Las principales vías de evolución específica para cada familia de sustancias, son las siguientes:

- **GLÚCIDOS** (azúcares sencillos, hemicelulosa, celulosa): hidrólisis, celulólisis.
- **PRÓTIDOS** (ácidos aminados, péptidos, proteínas): proteólisis.
- **LÍPIDOS** (ceras, ésteres complejos): saponificación, hidrólisis.
- **POLIMEROS FENOLICOS** (pigmentos, lignina, taninos): hidrólisis, oxidación.(36)

El papel de los microorganismos es decisivo para el desarrollo de estos procesos. Los microorganismos necesitan del carbono como fuente de energía (oxidan el C y lo devuelven a la atmósfera como CO₂) y el nitrógeno para incorporarlo a su protoplasma y ambos los toman de los restos vegetales. Cuando se incorporan los restos orgánicos al suelo se produce una intensa actividad microbiana, debido a la abundancia de restos fácilmente atacables. Después disminuye la actividad al ir quedando los restos más estables que sólo pueden ser descompuestos por los organismos más agresivos. (16,17)

Ya que los microorganismos pueden sintetizar e incorporar a sus tejidos las sustancias que han degradado, cuando mueren pasan a formar parte del humus del suelo aportando así otras sustancias tales como:

- **PROTEÍNAS:** reserva protoplásmica de N orgánico.
- **POLISACÁRIDOS SENCILLOS NO AMINADOS:** estas sustancias pueden adsorberse fácilmente sobre las arcillas y contribuyen a estabilizar la estructura del suelo.
- **PIGMENTOS OSCUROS:** estas sustancias contribuyen a la coloración parda u oscura de los suelos. El tipo más corriente de polímero fenólico oscuro procede de la oxidación enzimática de ciertos sustratos fenólicos sencillos; su polimerización se lleva a cabo fijando cadenas proteicas.(36)

En las Figuras 1 y 2 se representan los diagramas que muestran los diferentes pasos en la transformación de la materia orgánica.

Figura 1. Ciclo de la materia orgánica en el suelo

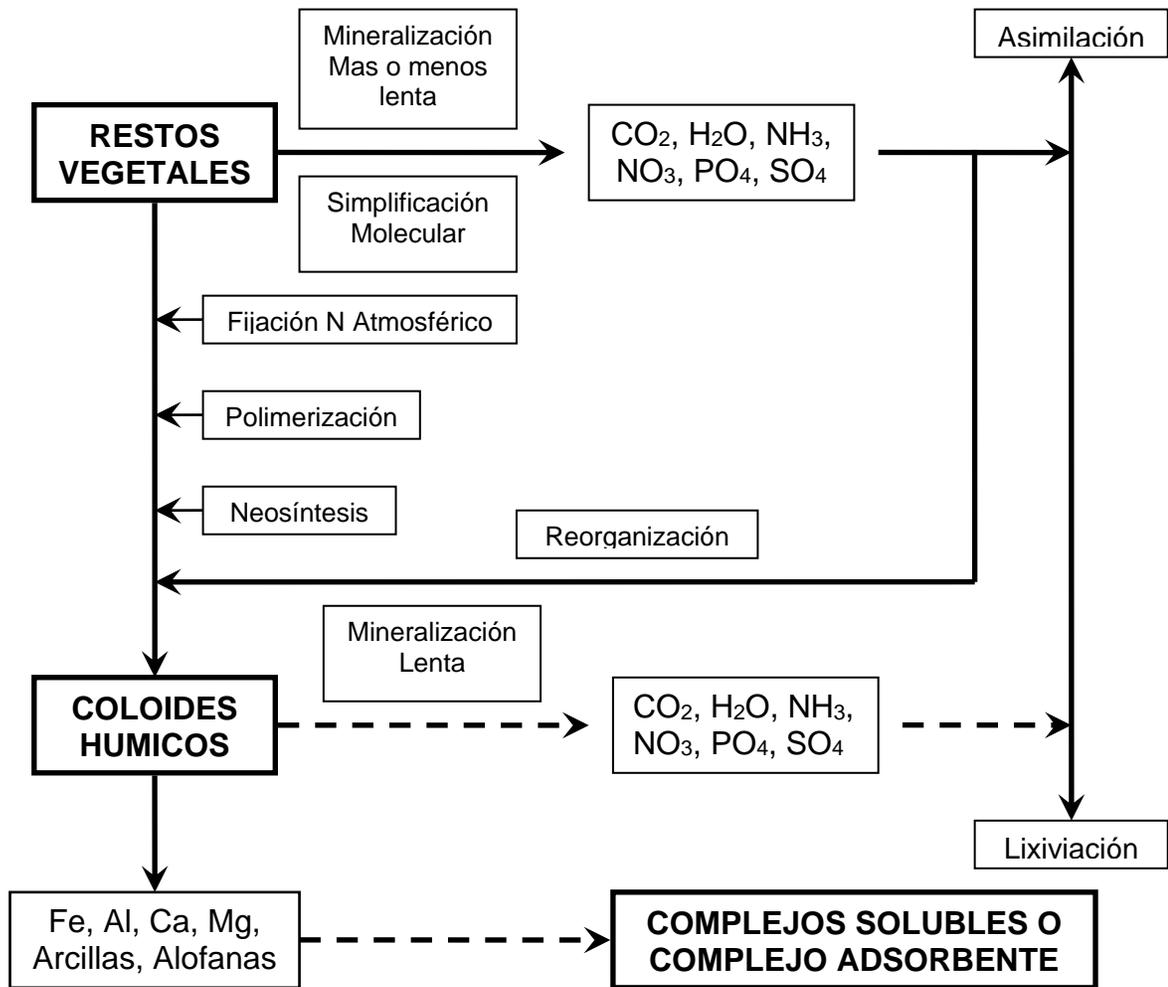
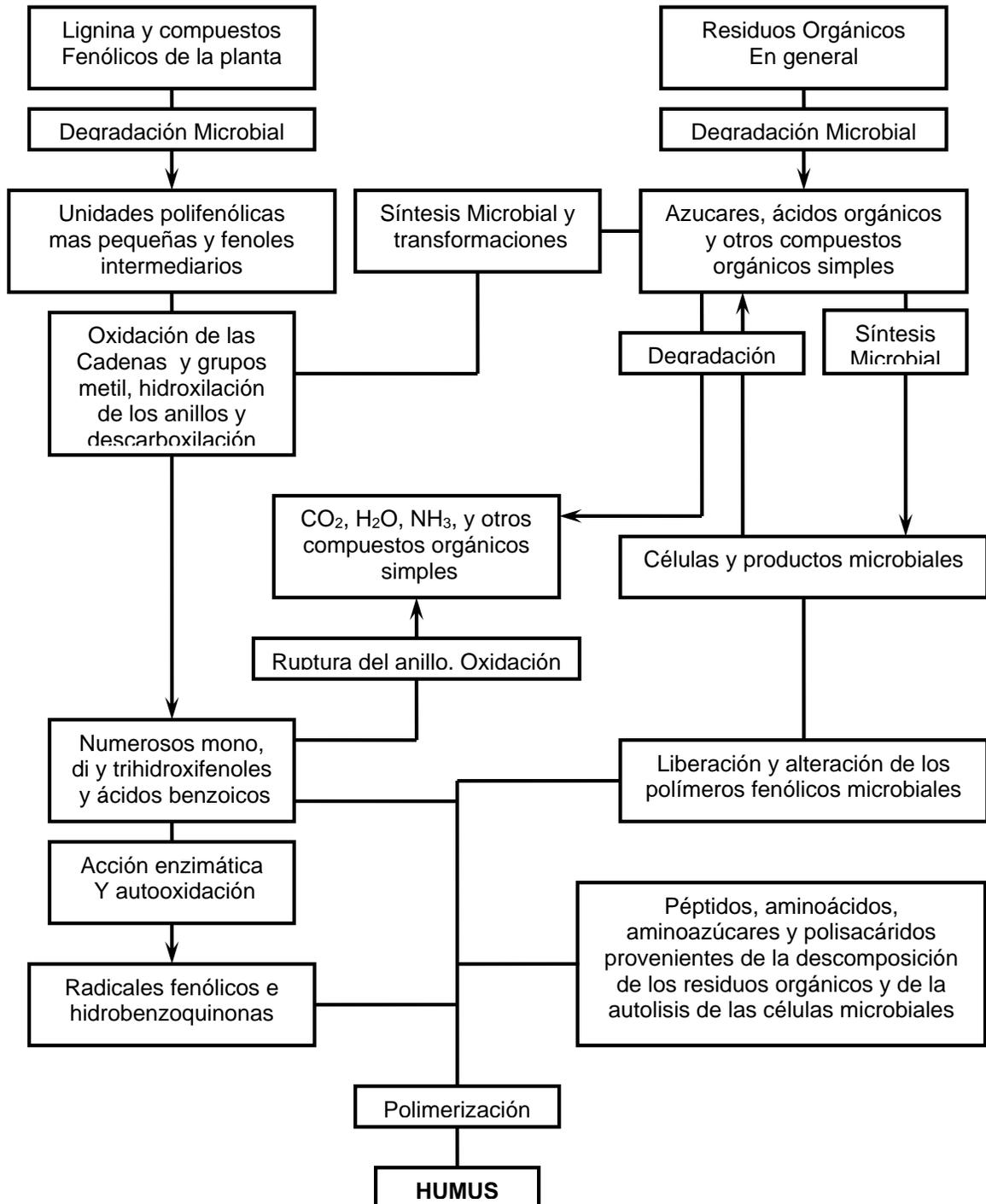


Figura 2. Síntesis del humus y de sus ácidos característicos.



4.3 Complejos Órganominerales

Es notable la facilidad con la que la materia orgánica tiende a unirse con la fracción mineral, en particular con los cationes, arcillas y óxidos de hierro y aluminio, formando complejos organominerales cuyas características se relacionan con la mayor parte de las propiedades físicas y químicas de los suelos.

El tipo de complejos organominerales está influenciado por las características del suelo. Veamos dos situaciones distintas.

4.3.1 Suelos Neutros, Aireados y Biológicamente Activos

En estas condiciones, la humificación es muy intensa, llegando hasta ácidos húmicos o huminas, poco móviles y de elevado peso molecular.

En estas condiciones la arcilla es estable, existen en el medio cationes de Calcio, Magnesio, y Potasio, entre otros, que actúan como coagulantes y se obtiene un complejo materia orgánica- Ca^{++} -arcilla que permanece floculado, (es estable) y favorece la formación de estructura en el suelo.

4.3.2 Suelos Ácidos y Biológicamente Poco Activos

En este suelo la materia orgánica no se polimeriza, existen muchos compuestos orgánicos ácidos poco polimerizados, hay poca actividad microbiana. En estas condiciones la materia orgánica tiene un fuerte carácter ácido. Las arcillas son inestables y se mineralizan. En el suelo hay pocos cationes (medio ácido) pero a valores de pH menores de cuatro, existen Fe^{+++} y Al^{+++} en la solución del suelo y se forman complejos organominerales materia orgánica- Fe^{+++} y materia orgánica- Al^{+++} que son solubles o seudsolubles dando lugar al proceso de podsolización.

4.4 Propiedades de la Materia Orgánica

La materia orgánica tiene una gran importancia en la génesis y fertilidad del suelo.

4.4.1 Propiedades Físicas.

- Confiere al suelo un determinado color oscuro.
- Estructura: Da lugar a una buena estructura, estable. Las sustancias húmicas tienen un poder aglomerante, las cuales se unen a la fracción mineral y dan buenos flóculos en el suelo originando una estructura grumosa estable, de elevada porosidad, lo que implica que la permeabilidad del suelo sea mayor.
- .Tiene una gran capacidad de retención de agua lo que facilita el asentamiento de la vegetación, dificultando la acción de los agentes erosivos. La materia orgánica es por tanto una fase que reacciona con la solución del suelo y con las raíces.
- La temperatura del suelo es mayor debido a que los colores oscuros absorben más radiaciones que los claros.
- Protege al suelo de la erosión: Los restos vegetales y animales depositados sobre la superficie del suelo lo protegen de la erosión hídrica y eólica. Por otra parte, como ya hemos mencionado, el humus tiene un poder aglomerante y da agregados que protegen a sus partículas elementales de la erosión.

- Protege al suelo de la contaminación. La materia orgánica adsorbe plaguicidas y otros contaminantes y evita que estos percolen hacia los acuíferos.

4.4.2 Propiedades Químicas.

- Capacidad de cambio: La materia orgánica fija iones de la solución del suelo, los cuales quedan débilmente retenidos, están en posición de cambio, evita por tanto que se produzcan pérdidas de nutrientes en el suelo.
- Influye en el pH. Produce compuestos orgánicos que tienden a acidificar el suelo. Un humus adecuado confiere capacidad tampón al suelo.
- Influye en el estado de dispersión / floculación del suelo.
- Es un agente de alteración por su carácter ácido. Descompone los minerales.

4.4.3 Propiedades Biológicas

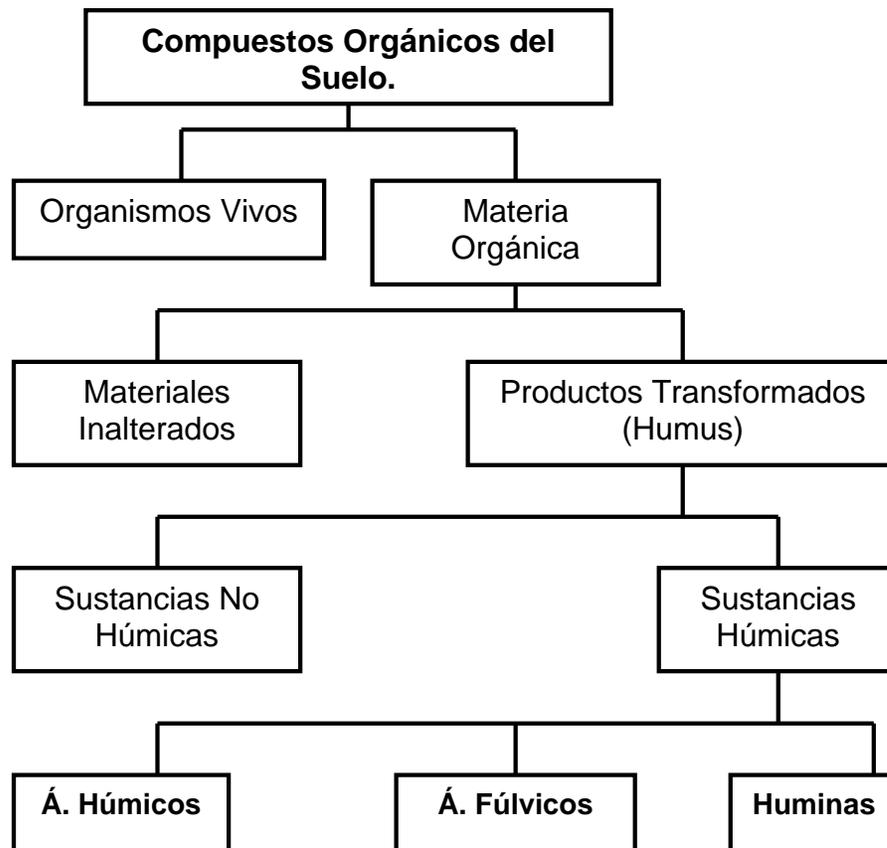
- Las sustancias húmicas aportan nutrientes a los microorganismos y es fuente de energía para ellos, convirtiéndose en componentes fundamentales para su desarrollo.

4.5 COMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGANICA

La Materia Orgánica del suelo puede ser dividida en Sustancias Húmicas y No Húmicas. Las sustancias no húmicas están formadas por compuestos reconocibles tales como ácidos grasos, carbohidratos, lípidos, aminoácidos, y proteínas; mientras que las sustancias húmicas constituyen una serie de sustancias de alto o bajo peso molecular formadas por reacciones secundarias de síntesis que forman grupos heterogéneos que no están definidos por una composición determinada sino que se establecen en base a su comportamiento frente a determinados reactivos según sean solubles o precipiten. El comportamiento de estas fracciones caracteriza muchas veces la génesis y la evolución de los suelos; sin el conocimiento de éstas difícilmente podrían explicarse procesos como los de podsolización, andolización, mecanización, etc.

En La Figura 3 se aprecia un diagrama que representa la composición química de la materia orgánica.

Figura 3. Distribución de los constituyentes orgánicos en el suelo.



Las diferentes fracciones de la materia orgánica que interesa resaltar son:

4.5.1 Ácidos Húmicos: Se presentan como sólidos amorfos de color marrón oscuro, generalmente insolubles en agua y en casi todos los disolventes no polares, pero fácilmente dispersables en las soluciones acuosas de los hidróxidos y sales básicas de los metales alcalinos constituyendo un hidrosol que puede experimentar floculación mediante el tratamiento de los ácidos o los demás cationes.

Desde el punto de vista estructural, poseen pesos moleculares que varían entre 50000 y 100000, su molécula parece estar constituida por un núcleo de naturaleza aromática más o menos condensada, y de una región cortical con mayor predominio de radicales alifáticos, presentando en conjunto el carácter de heteropolímeros condensados. Su polimerización es alta y en su estructura se presentan moléculas esféricas (NH_2 y COOH), con proteínas y núcleos quinónicos con Nitrógeno fijado bajo formas $\text{NH}_4 - \text{NH}_2$, a veces heterocíclicos. (36)

4.5.2 Ácidos Fúlvicos: Constituyen una serie de compuestos sólidos o semisólidos, amorfos de color amarillento y naturaleza coloidal, fácilmente dispersables en agua y no precipitables por los ácidos, susceptibles en cambio de experimentar floculación en determinadas condiciones de pH y concentración de soluciones de cationes no alcalinos. Con pesos moleculares que varían entre 500 y 2000 poseen una composición dominada por compuestos tánicos, urónidos y aminoácidos. En los ácidos fúlvicos más móviles abundan ácidos orgánicos y compuestos fenólicos.(36)

4.5.3 Huminas: Son materia orgánica que ha interaccionado fuertemente con materiales arcillosos y de extracción difícil con los reactivos alcalinos. Son ácidos fijados en las arcillas por intermedio de puentes catiónicos, o precipitados después de una degradación microbiológica o química.

Cada una de estas fracciones juega un papel muy importante en el destino que tomen los contaminantes orgánicos introducidos en un sistema natural. (19,20)

Hasta hace escasamente pocos años (1980), los estudios sobre la fracción humificada se centraban casi exclusivamente en las fracciones extraíbles por los reactivos alcalinos, ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, aludiendo

solamente a la fracción humina como el residuo insoluble en los reactivos habitualmente utilizados. Es así como Rice y MacCarthy (1988) hacen notar que solamente el 4% de las citas bibliográficas encontradas en el Chemical Abstracts bajo los términos de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y sustancias húmicas corresponden al término humina y además de una a tres de estas referencias esta incorrectamente citada. (21,22)

Sin embargo, el elevado porcentaje de fracción humina, que alcanza en algunos suelos el 80% del carbono total hacía suponer el desarrollo de estudios conducentes a un mejor conocimiento de esta fracción, la cual constituye un grupo de sustancias heterogéneas y relativamente diferentes entre sí, cuyo origen puede tener lugar mediante la vía de herencia o la de neoformación.

Los principales tipos de huminas son:

4.5.3.1 Humina de Herencia o Residual. Este tipo de humina se aproxima a la materia orgánica fresca. Está constituida por partículas de densidad menor de 1.8 g/cc pero que al contrario que la materia orgánica fresca, se hallan retenidas en los agregados de la fracción pesada del suelo mediante uniones que no se rompen por medio de la agitación mecánica común pero sí por la acción del ultrasonido, debido a que ésta se encuentra débilmente ligada a las arcillas de los suelos mediante una serie de enlaces lábiles. Esta fracción se supone derivada directamente de la lignina mediante una transformación incompleta sin pasar por una fase soluble, en la cual se incrementan los grupos COOH. El mecanismo de formación consistiría en una pérdida de grupos metoxilos de la lignina con la adquisición de grupos carboxilos formando uniones lábiles con las arcillas. Es mayoritaria en

aquellos suelos que tienen una vegetación de difícil biodegradación.(22, 23,24,36)

4.5.3.2. Humina de Insolubilización. Se genera a través de un proceso de neoformación que implica la insolubilización progresiva de precursores solubles de naturaleza fenólica a menudo ligados a compuestos peptídicos. Ha seguido en su formación una vía de humificación indirecta, que requiere la presencia de cationes complejados para que los productos solubles (compuestos fenólicos, táninos, monómeros de lignina) evolucionen a formas complejas insolubles a través de una polimerización progresiva. Esta se encuentra irreversiblemente ligada a la fracción mineral por medio de enlaces que solo pueden ser destruidos por medio de agentes químicos que rompen la unión con los silicatos. Así se obtiene la humina unida al hierro y la humina unida a la arcilla o de insolubilización. Al finalizar el tratamiento se obtiene un residuo llamado humina no extraíble

4.5.3.3 Humina Microbiana. La neoformación por acción microbiana genera este tipo de humina, integrada por polisacáridos, por poliuronidos y azúcares aminados; su acción agregante en el suelo es responsable de la estabilidad, de la estructura y de las condiciones físicas favorables, en los medios en que se encuentra. (25,26)

4.5.3.4 Humina Evolucionada por Maduración. Esta humina resiste muchos de los reactivos de extracción y se caracteriza por presentar núcleos aromáticos bien condensados. (36)

El conocimiento de la fracción humina es esencial en las modernas clasificaciones bioquímicas del humus que tienen en cuenta la mayor o menor evolución y madurez del humus en función de la proporción de huminas evolucionadas y heredadas. (23)

4.6 PURIFICACION DE LAS SUSTACIAS HUMICAS

Son numerosos los métodos ensayados para la purificación de diversos tipos de material húmico, sin embargo entre los más importantes y aplicados se encuentran el tratamiento con resinas de cambio, diálisis, procesos de liofilización, disolución de cenizas con mezclas ácidas como HCl-HF. Los métodos basados en el uso de resinas, especialmente de intercambio iónico suelen ser especialmente eficaces en la purificación de las sustancias húmicas.

El uso de resinas de cambio está basado en fenómenos de intercambio. Un intercambiador iónico consiste en una matriz insoluble, a la cual se han ligado covalentemente grupos cargados. Los grupos cargados están asociados a contraiones móviles, que pueden ser intercambiados reversiblemente con iones de igual carga, sin alterar la matriz. La unión del contraión al intercambiador es debida a fuerzas electrostáticas entre ellos. Al iniciarse el proceso, las cargas del intercambiador están balanceadas por contraiones con otro ión de igual carga, de tal forma que el proceso total en una zona dada es eléctricamente neutro.

Actualmente se utilizan materiales sintéticos como matriz, ya que presentan mayor capacidad, estabilidad química, mecánica y térmica frente a oxidantes. Entre las matrices más utilizadas se encuentran las resinas de poliestireno, resinas de tipo fenol-formaldehído, celulosa, sacarosa y dextrano.

Además de las resinas de intercambio, estudios recientes muestran el uso de resinas de adsorción como son la Amberlita XAD-16 (polimetilmetacrilato), y las columnas de polivinilpirolidina (PVP) insoluble. Las resinas de Adsorción Amberlita están constituidas por un adsorbente polimérico suministrado en

forma de esferas blancas insolubles. Es un material no iónico, hidrofóbico, constituido por un polímero de enlaces cruzados de los cuales se derivan sus propiedades adsorptivas (contiene tanto una fase de polímero continuo y una fase porosa continua) Poseen una alta área de superficie y su naturaleza es aromática. El adsorbente polimérico XAD-16 es producido para adsorber moléculas hidrofóbicas de solventes polares y componentes orgánicos polares de flujos de vapor. Su característica distribución de tamaño de poros hace de esta resina una excelente opción para la adsorción de sustancias orgánicas.

4.7 CARACTERIZACION DE LA FRACCION INSOLUBLE HUMINA

La caracterización de las diferentes fracciones que integran el humus abarca innumerables métodos, algunas de estas técnicas y el fundamento en que se basan son:

4.7.1 METODOS FISICOS

- Separación por densimetría de los materiales humificados de aquellos con menor o ningún grado de humificación.
- Determinación de densidad óptica (tipo de radicales y estructuras) y coeficientes de color (absorción de luz visible a 472 y 664 nm), mediante espectroscopia.
- Determinación de formas, tamaños y pesos por cromatografía sobre geles calibrados, filtrados, etc.

4.7.2 METODOS QUÍMICOS

- Determinación de la composición elemental, en especial C, H, O, y N.
- Determinación de las formas orgánicas de N, P, S.
- Determinación de grupos funcionales, en especial carboxílicos, fenólicos y alcohólicos.
- Extracción de ácidos fúlvicos y húmicos y caracterización de los compuestos no extraíbles (huminas de diferente origen y naturaleza).

- Caracterización de carbohidratos, lípidos y aminoácidos.

En las caracterizaciones y determinaciones de las sustancias húmicas las técnicas mas utilizadas son las de Resonancia Magnética Nuclear, Espectrometría de Masas, Pirolisis, Infrarrojos, Análisis Térmico – diferencial, rayos X, etc. (36)

5. METODOLOGÍA

5.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

El estudio se realizó tomando muestras de un suelo Andisol ubicado en la Vereda La Aurelia, Municipio de Cajibío, Departamento del Cauca; cultivado con café y perteneciente a la asociación de caficultores de la vereda.

Antes de iniciar la operación de muestreo se dividió el área total en unidades uniformes. Teniendo en cuenta para ello aspectos tales como el relieve, vegetación, tipo de cultivo, manejo del suelo, etc. Una vez seleccionada la unidad de muestreo, éste se realizó completamente al azar recorriendo el área definida en zig-zag, extrayendo de 10 a 15 submuestras de suelo con una pala de forma cuadrada, de los primeros 40 cm de profundidad, eliminando los bordes y la vegetación superficial de ellas. Con esta profundidad se pretendió abarcar la totalidad del horizonte A, debido a que en él se encuentra la capa arable y el mayor contenido de Materia Orgánica. Posteriormente las submuestras se colocaron en un balde, para romper los terrones, homogeneizar bien y eliminar los restos de vegetación, como raíces, rastrojos, palitos, etc. y así obtener una muestra compuesta que posteriormente fue llevada al Laboratorio de Agroquímica, donde se sometió al proceso de secado. Una vez seca, se procedió a tamizar; utilizando para ello un tamiz de malla 2 mm y se empacó e identificó de manera adecuada.

(27)

5.2 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE LA MUESTRA DE SUELO

5.2.1 Determinación de Textura.

La textura del suelo es una propiedad física muy importante para evaluar propiedades tales como pronosticar la capacidad de Intercambio Cationico, como parámetro para clasificar un suelo y para evaluar la cantidad de suelo perdido por erosión. El método aplicado fue el de Bouyoucos que consiste en determinar la cantidad de sólidos en suspensión por medio del Hidrómetro a diferentes tiempos.

El método de Bouyoucos se fundamenta en la Ley de Stokes (1951) que depende de la proporción en que caen las partículas en un fluido viscoso y de la medida de esa proporción.

5.2.2 Determinación de Humedad.

Para esta prueba se pesaron 10,06 g de suelo en una cápsula de porcelana previamente tarada, y se llevaron a una estufa por 24 horas a 105 °C. Con la diferencia de pesos se determino la humedad de la muestra.

5.2.3 Determinación de pH.

El pH se determinó por medio del método potenciométrico, basado en la comparación del potencial eléctrico producido por los iones H^+ en la solución, con el potencial constante que produce un electrodo patrón o de Calomel. Los iones H^+ son detectados por un electrodo de hidrógeno. La medición de pH se realizó utilizando una suspensión de suelo: agua relación 1:1; así se pesaron 20,02 g de suelo y se les adicionó 20,0 mL de agua destilada. Se agitó intermitentemente durante 1 hora y luego se midió el valor de pH.

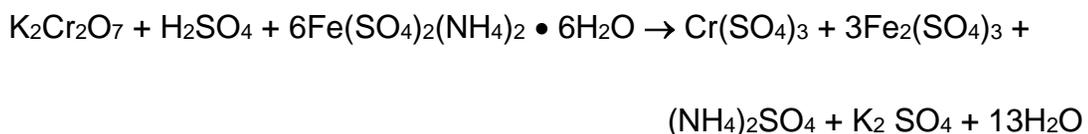
5.2.4 Determinación de Materia Orgánica.

Para realizar esta determinación se utilizó el método de Walckley – Black, que consiste en oxidar el carbono orgánico presente en el suelo. El oxidante utilizado es Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$ 1N) y H_2SO_4 concentrado. La reacción que generada fue:



Por este método se extrajo el carbono fácilmente oxidable y con un rendimiento del 77%, el carbono restante es grafito o carbón vegetal que no se oxida fácilmente.

Como subproducto de la reacción quedó materia orgánica que no se oxidó y $K_2Cr_2O_7$ sin reaccionar entonces se valoró volumétricamente el $K_2Cr_2O_7$ con una solución de sulfato ferroso amónico. La reacción que se presentó es la siguiente:

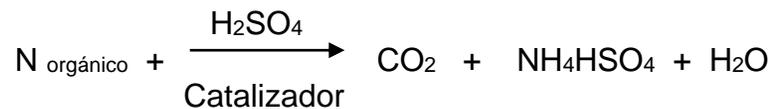


5.2.5 Determinación de Nitrógeno.

El método usado para la determinación cuantitativa de Nitrógeno fue el de Kjeldahl, el cual esta basado en tres etapas:

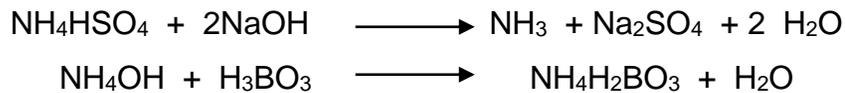
➤ OXIDACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra de suelo se trató con ácido sulfúrico y catalizadores con el propósito de oxidar la materia orgánica y convertir el nitrógeno en sulfato ácido de amonio según la siguiente reacción:



➤ DESCOMPOSICIÓN DEL SULFATO ÁCIDO DE AMONIO

El sulfato ácido de amonio se descompone por medio de un exceso de álcali para liberar el amoniaco el cual se recogió por destilación sobre ácido bórico. Las reacciones fueron:



➤ TITULACIÓN DEL BORATO DE AMONIO

El borato de amonio formado en el paso anterior se valoró con HCl ó H₂SO₄ usando como indicador de punto final una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno. La reacción correspondiente fue:



5.2.6 Determinación de la Acidez Intercambiable.

Esta hace referencia a las especies catiónicas que generan acidez potencial o cambiabile, tales iones son el H^+ y Al^{+3} .

La metodología seguida consistió en agitar la muestra de suelo con una solución neutra de KCl 1N que produjo un desplazamiento de todos los iones presentes en el suelo, liberando así los iones H^+ y Al^{+3} , los cuales son titulables con soda en presencia de fenolftaleina. Una vez titulados estos iones, quedando en forma de $Al(OH_2)_5^{+2}$ se valora el Al^{+3} presente en forma hidratada de acuerdo a la siguiente reacciones:



El NaOH producido se titula con HCl y como la cantidad de NaOH depende de la cantidad de $AlCl_3$, el número de miliequivalentes de ácido clorhídrico empleados para neutralizar el NaOH será igual al número de miliequivalentes de Al^{+3} .

5.2.7 Determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico y Bases de Cambio.

El método utilizado se basó en desplazar todos los cationes presentes en el suelo y reemplazarlos por otro catión, en este caso el NH_4^+ . El suelo seco, tamizado y muy fino, se saturó con acetato de amonio 1N pH 7, tratando de conseguir la máxima saturación y estabilidad. El ión amonio se desplazó con Na^+ , (NaCl al 10%), formándose NH_4Cl y se determinó agregando formol

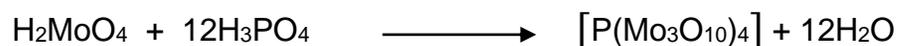
neutralizado al 40% y titulando el HCl generado con NaOH 0.1N en presencia de fenolftaleína, de acuerdo con la siguiente reacción.



Las bases cambiables son los metales alcalinos y alcalinotérreos adheridos a las arcillas y a la materia orgánica del suelo que pueden ser cambiados entre si o con otro ión cargado positivamente de la solución del suelo. La cuantificación de las bases de cambio se basa en la extracción con acetato de amonio normal y neutro. Los cationes desplazados (Ca, Mg, Na, K) se pueden determinar mediante técnicas espectrofotométricas. (36)

5.2.8 Determinación de Fósforo.

El método utilizado para esta determinación fue el de Bray II, en el cual el ión fluoruro precipitó el calcio soluble extrayendo así las formas de P-Ca más solubles. Una vez extraído el fósforo se procedió a su determinación por el método colorimétrico, el cual consiste en formar un complejo del fósforo con ácido molíbdico. El método cloro molíbdico utiliza una solución de HCl - $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ el cual reacciona con H_3PO_4 para produce H_2MoO_4 .



Este hetero compuesto incoloro por reducción forma un compuesto de color azul que absorbe a 660 nm.

La reducción se realizó con ácido ascórbico.

5.2.9 Determinación de Elementos Menores

Para la cuantificación del Fe, Mn, Cu, Zn se usó una solución de Ácido Etilendiaminopentacético (DTPA) ya que este es un extractante adecuado para analizar estos elementos en el suelo. Para ello se realizó una extracción con solución de Ácido Etilendiaminopentacético (DTPA), tamponado a pH 7.3 con trietanolamina (TEA) y HCl, y la determinación se llevó a cabo por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

5.3 FRACCIONAMIENTO DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO.

Esta etapa se refiere al estudio pormenorizado de la Materia Orgánica. El fraccionamiento detallado del humus permite apreciar una serie de diferencias en los suelos que por análisis de rutina pasan desapercibidas.

Para la extracción de la fracción húmica, fue necesario primero fraccionar la materia orgánica del suelo, con el objeto de separar las sustancias húmicas de la materia orgánica fresca o no humificada.

5.3.1 Separación de la Materia Orgánica no Humificada, de la Fracción Humificada

Con el objeto de comparar la eficacia del método en la separación de la materia orgánica fresca o no humificada, de la humificada se aplicó a una muestra la metodología densimétrica y a otra la granulométrica.

El método densimétrico consistió en utilizar solventes orgánicos densos, como el bromoformo, a través de los cuales se liberaron los materiales

orgánicos poco transformados (livianos) de los ya transformados o ligados, mediante la utilización de centrifugación a 3600 r.p.m. En este caso es muy importante tener en cuenta que el tratamiento mecánico, debe ser controlado de tal manera que la desnaturalización sea mínima

El método granulométrico consistió en que los agregados del suelo considerados normalmente estables en agua, fueron disociados por tratamiento mecánico moderado, en microagregados y complejos orgánico-arcillosos, que fueron separados después por granulometría. Este tratamiento produce el mínimo de desnaturalización y hace posible estudiar los compuestos orgánicos de las fracciones dispersables o no, en agua. (28,29)

En las Figuras 4 y 5 se detallan los procedimientos realizados para las dos metodologías aplicadas.

Figura 4. Método Densimétrico para Separación de Materia Orgánica Humificada.

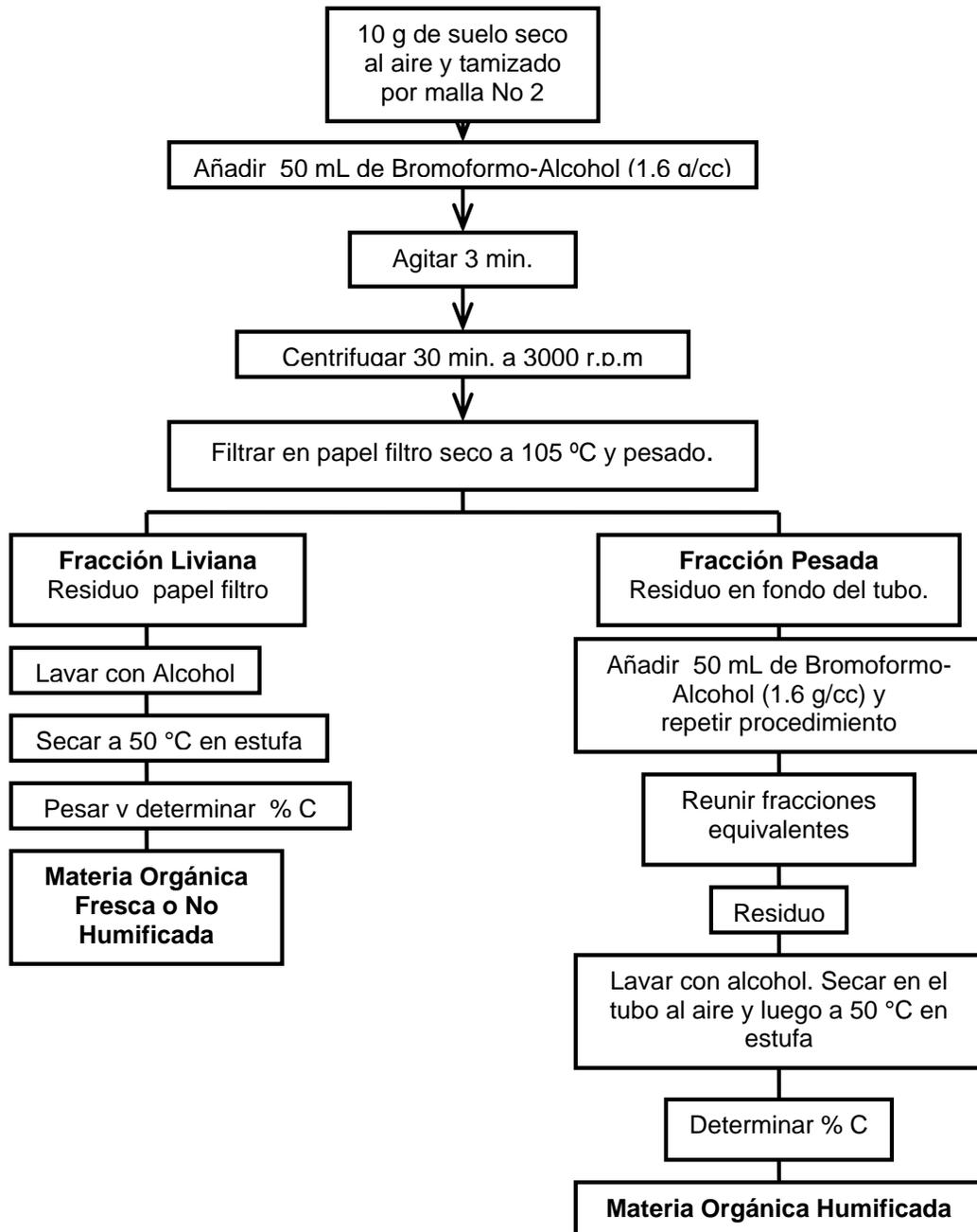
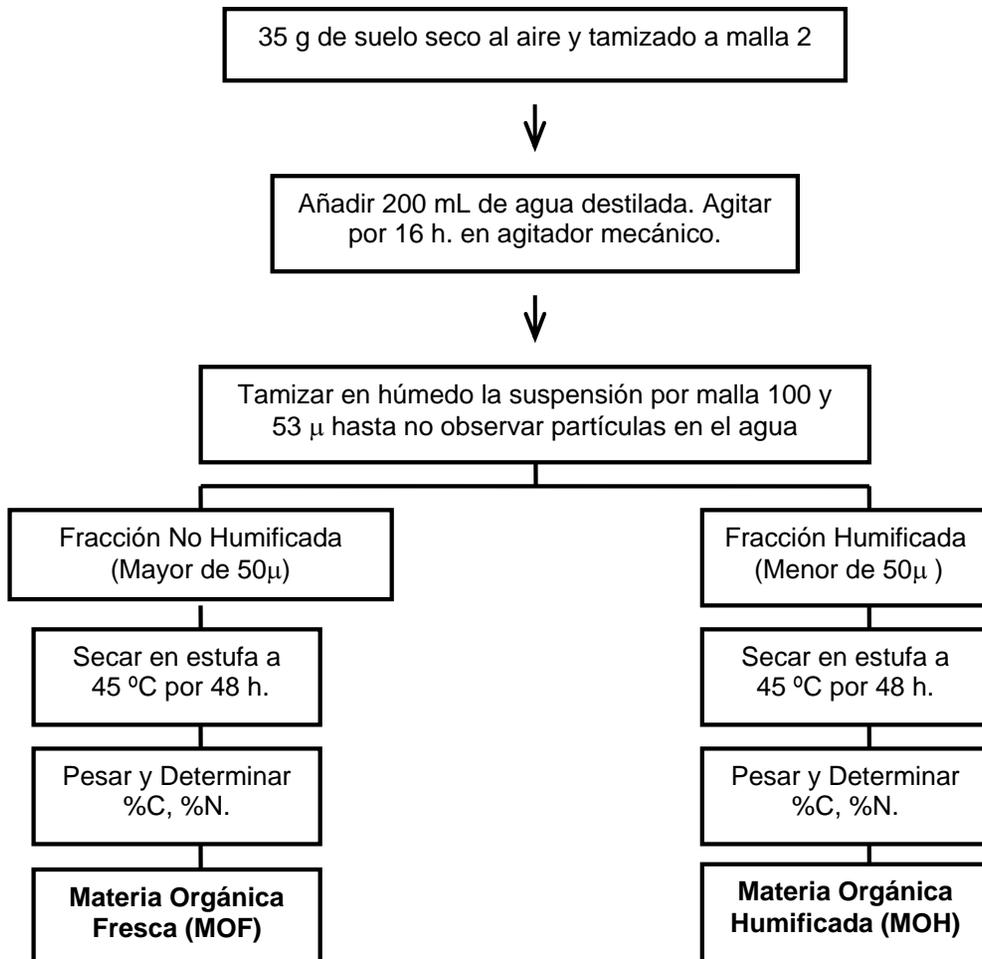


Figura 5. Método Granulométrico para Separación de Materia Orgánica Humificada



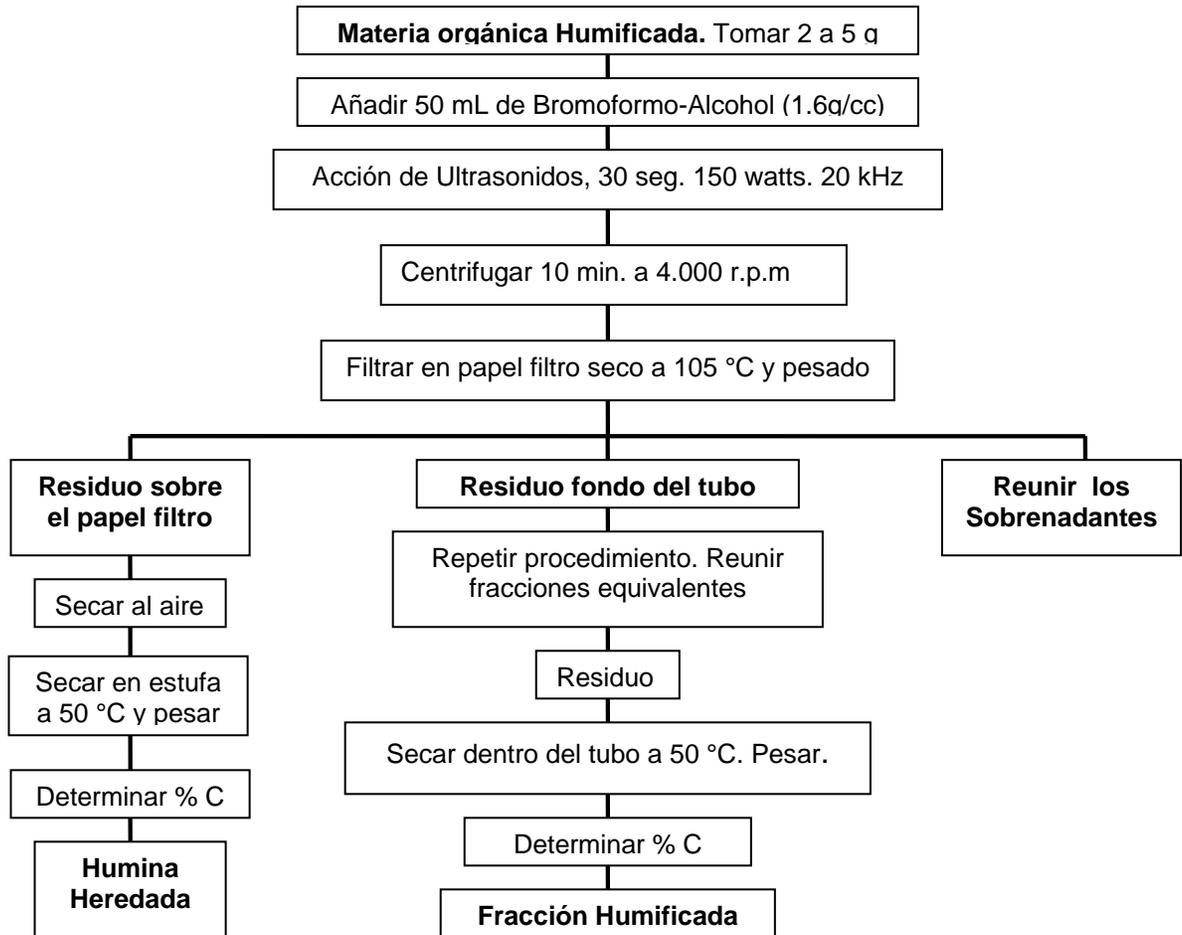
5.3.1.1 Análisis Químicos de las Fracciones de Materia Orgánica Obtenidas por el Método Granulométrico y Densimétrico.

A las fracciones obtenidas por las dos metodologías se les practicó los análisis de Humedad, % de Carbono y % de Nitrógeno con el objeto de evaluar la relación C/N y dilucidar el grado de separación de cada una de las fracciones.

5.3.2 Separación y Cuantificación de Humina Heredada.

Esta se llevó a cabo sobre la Materia Orgánica Humificada obtenida por cada uno de los métodos. En Figura 6 se describe el proceso.

Figura 6. Extracción De Humina Heredada.



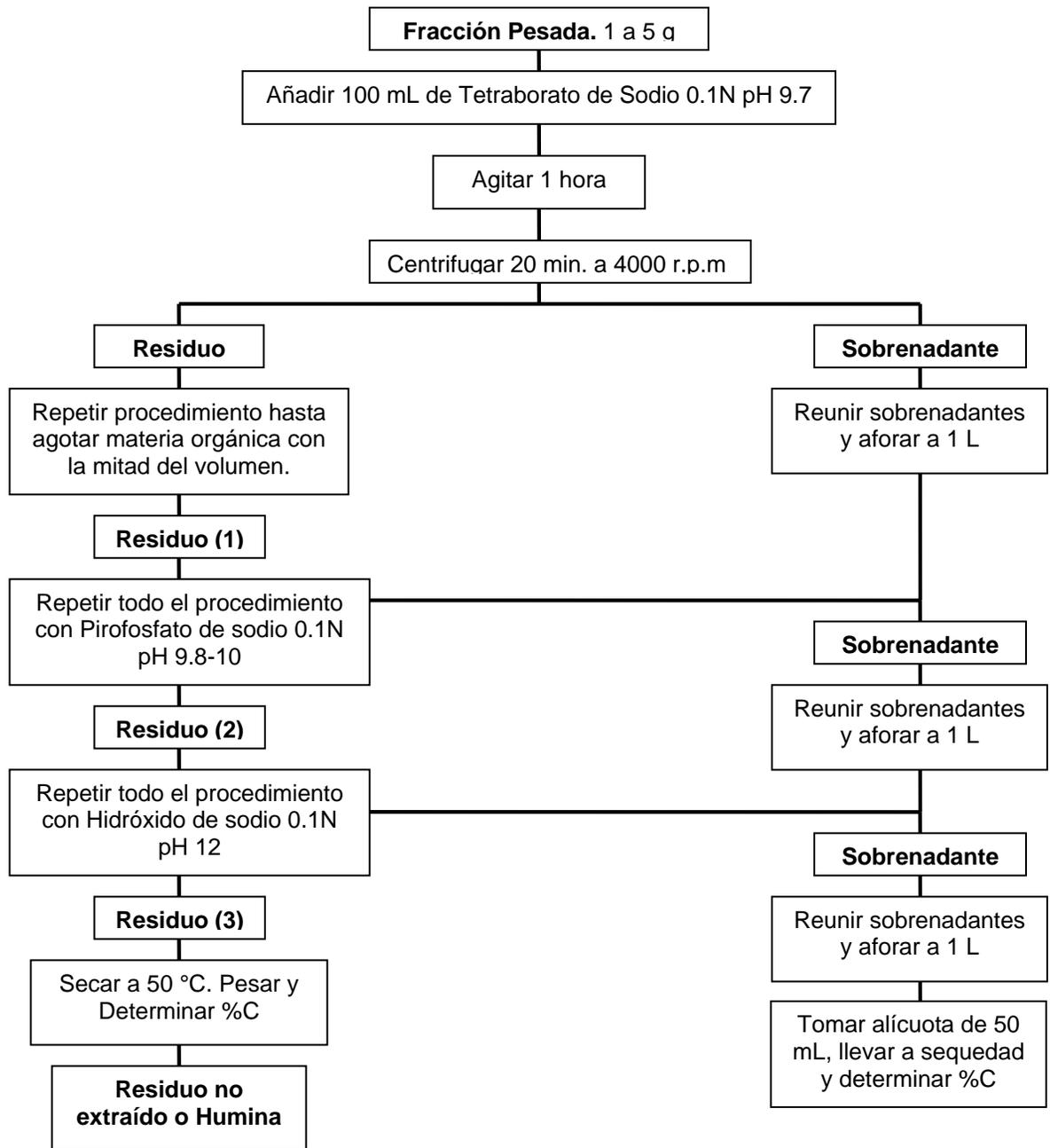
5.3.3 Extracción de la Fracción Humina a partir de los Complejos Orgánico - minerales.

El objetivo principal fue la separación de la fracción humina de los complejos orgánico-minerales, tales como ácidos húmicos y ácidos fúlvicos. Para ello se realizaron extracciones sucesivas con Tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 0.1N, que distingue enlaces electroestáticos, que son de fácil rompimiento por simple intercambio iónico de las sustancias organominerales móviles.

Posteriormente se utilizó Pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) 0.1N, para romper los enlaces de coordinación, más específicamente uniones de materia orgánica y arcillas. Por último, se utilizó soluciones de NaOH 0.1N que destruyen todos los enlaces organominerales aún presentes. De esta manera se obtuvieron las diferentes fracciones de la materia orgánica humificada. (1,30)

En la Figura 7 se presenta el procedimiento utilizado.

Figura 7. Separación de la Fracción Humina.

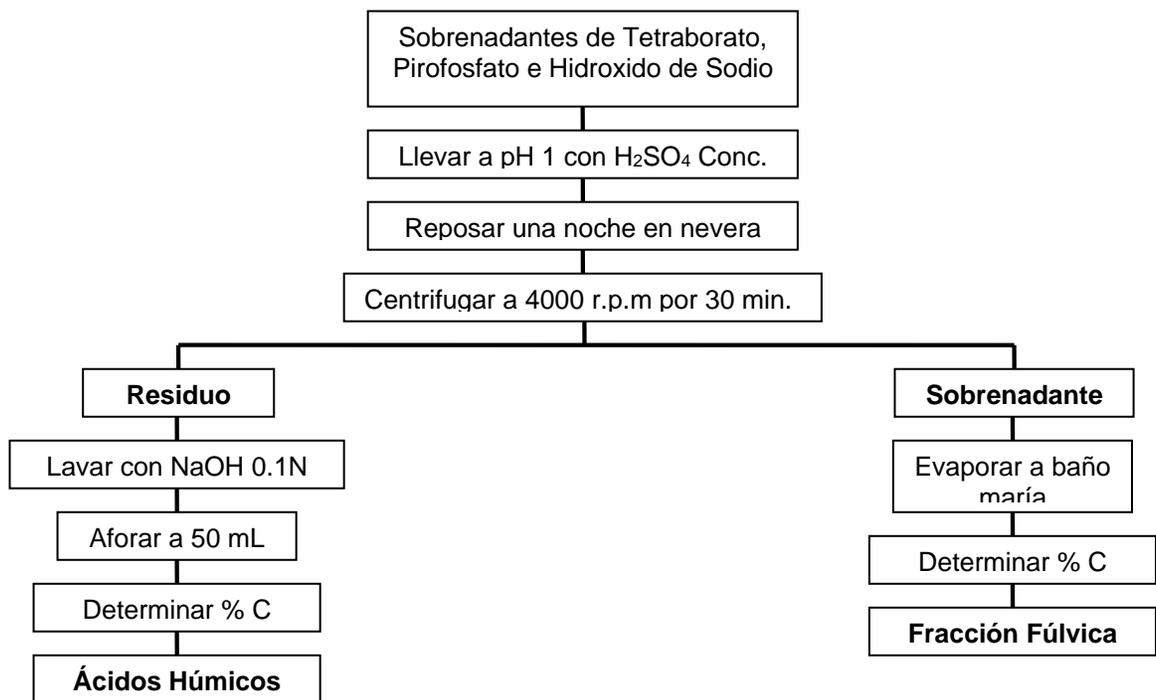


5.3.4 Separación de Ácidos Húmicos y Fúlvicos.

Con el objeto de evaluar el grado de humificación de la materia orgánica y para continuar la extracción y purificación de la fracción húmica, se procedió a separar los ácidos húmicos de los fúlvicos.

Para realizar este proceso se partió de los sobrenadantes básicos obtenidos en la extracción de la fracción húmica. El procedimiento seguido se muestra en la Figura 8.

Figura 8. Separación Ácidos Húmicos y Fúlvicos.



5.4 FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN HUMINA.

5.4.1 Extracción de los Componentes de la Fracción Humina.

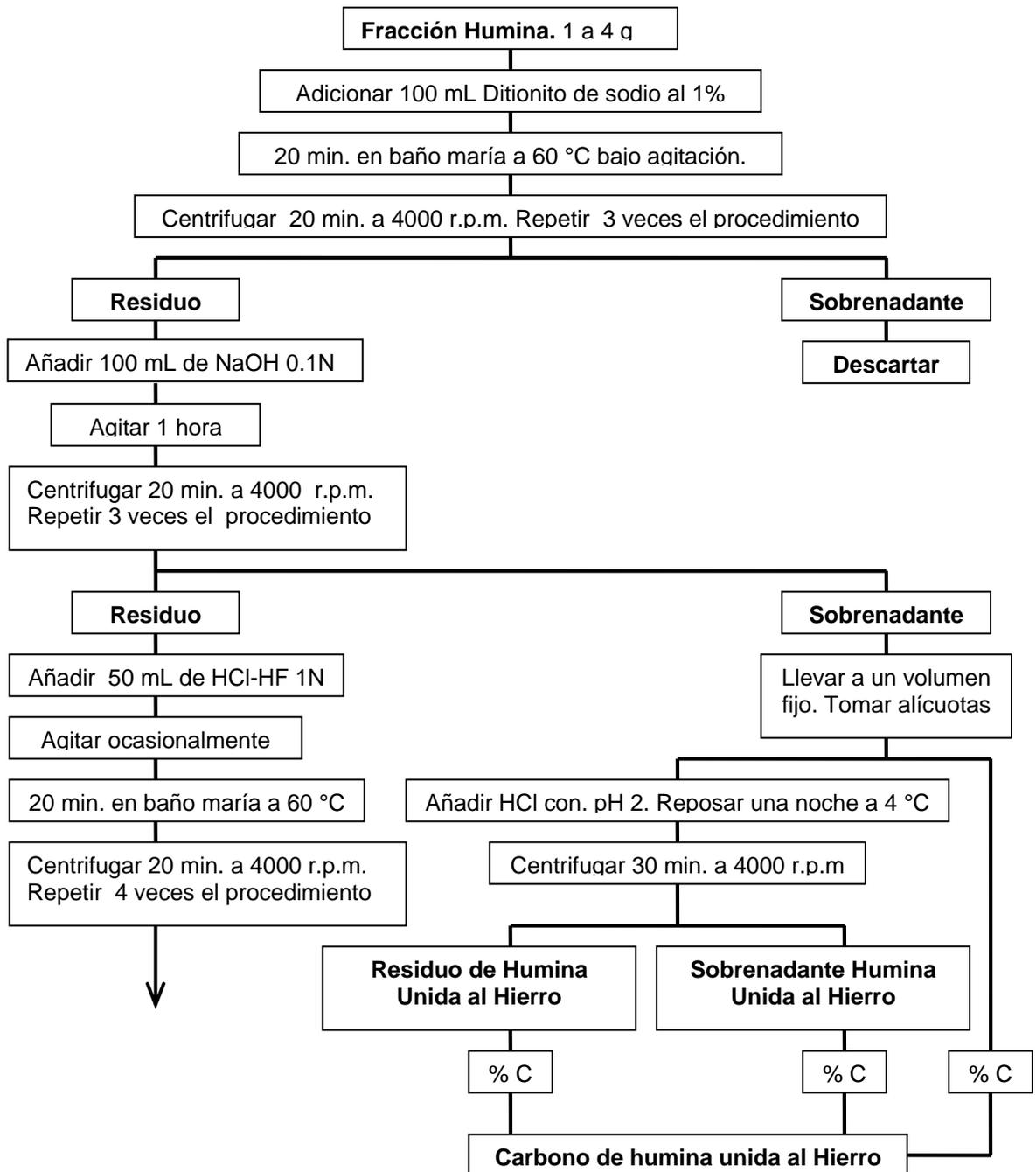
Este proceso se realizó sobre el residuo obtenido de la fracción Húmina, basándose en el grado de reactividad de esta fracción frente a determinados reactivos químicos.

Dentro del residuo no extraíble o humina se conciben diversos tipos de fracciones de acuerdo con la actitud o reactividad frente a los diferentes agentes utilizados. Las uniones que se establecen entre la humina y la fracción mineral son muy resistentes, por lo tanto a través de la acción del Ditionito de Sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) se rompieron las uniones de la Materia Orgánica con el Hierro y el Aluminio, liberando así la materia orgánica ligada al hierro (humina unida al hierro) que posteriormente fue separada mediante tratamiento con NaOH 0.1N.

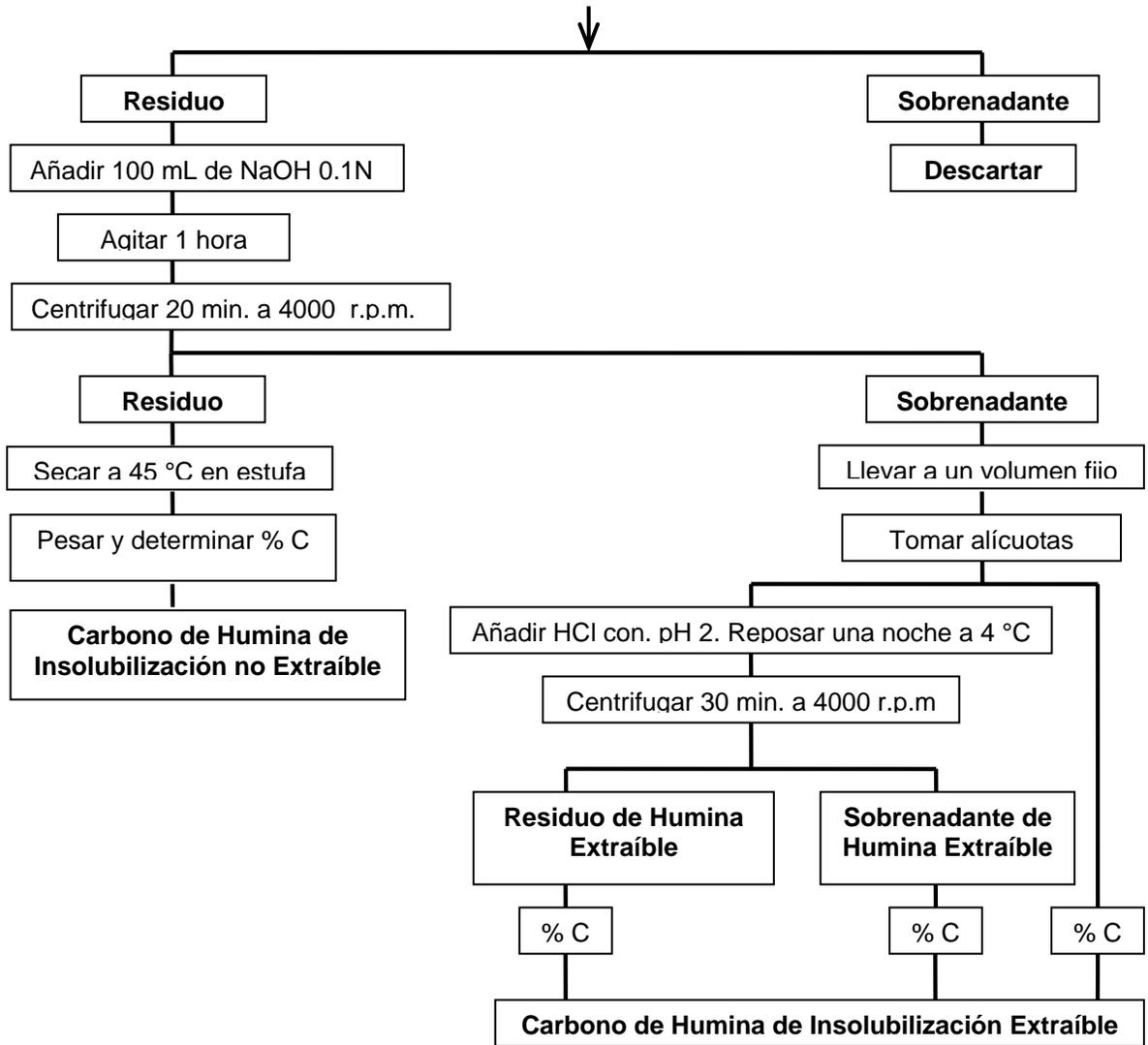
Se continuo la extracción sucesiva con una mezcla de ácidos HCl-HF, para destruir las arcillas y liberar la materia Orgánica, permitiendo la extracción posterior con NaOH, separando así la humina de insolubilización extraíble (humina unida a la arcilla) de la no extraíble (humina retenida). (31, 32,33)

El procedimiento seguido se describe en la Figura 9.

Figura 9. Separación de los Componentes de la Fracción Humina



Continuación Figura 9: Separación de los Componentes de la Fracción Humina.



5.5 PURIFICACION DE LAS FRACCIONES DE HUMINA DE INSOLUBILIZACION EXTRAIBLE Y HUMINA UNIDA AL HIERRO.

El residuo y sobrenadante correspondientes a la fracción de humina de insolubilización extraíble y humina unida al hierro fueron sometidos a un proceso de purificación y limpieza. En ambos casos los residuos fueron tratados con ácido fluorhídrico para reducir su contenido de cenizas y luego fueron dializados en una membrana de 12000 daltons, proceso que se llevó a cabo hasta la ausencia de cloruros en el agua, dichas fracciones fueron liofilizadas para su posterior caracterización. La purificación del sobrenadante de las dos fracciones separadas, se logró usando una columna de resina de adsorción del tipo Amberlita XAD-16 que adsorbe las moléculas de bajo a mediano peso molecular y elimina las sales provenientes de los extractantes, luego se pasaron a través de una resina de intercambio catiónica, Rexyn 101 con grupos activos RSO_3^- , que elimina la mayor parte de Na^+ intercambiándolo por iones H^+ . Posteriormente se dializaron utilizando membranas de celulosa de 3500 daltons y por último se liofilizaron.

Los procesos seguidos se muestran en las Figuras 10 y 11.

Figura 10. Purificación Residuo de Humina de Extraíble y Humina Unida al Hierro.

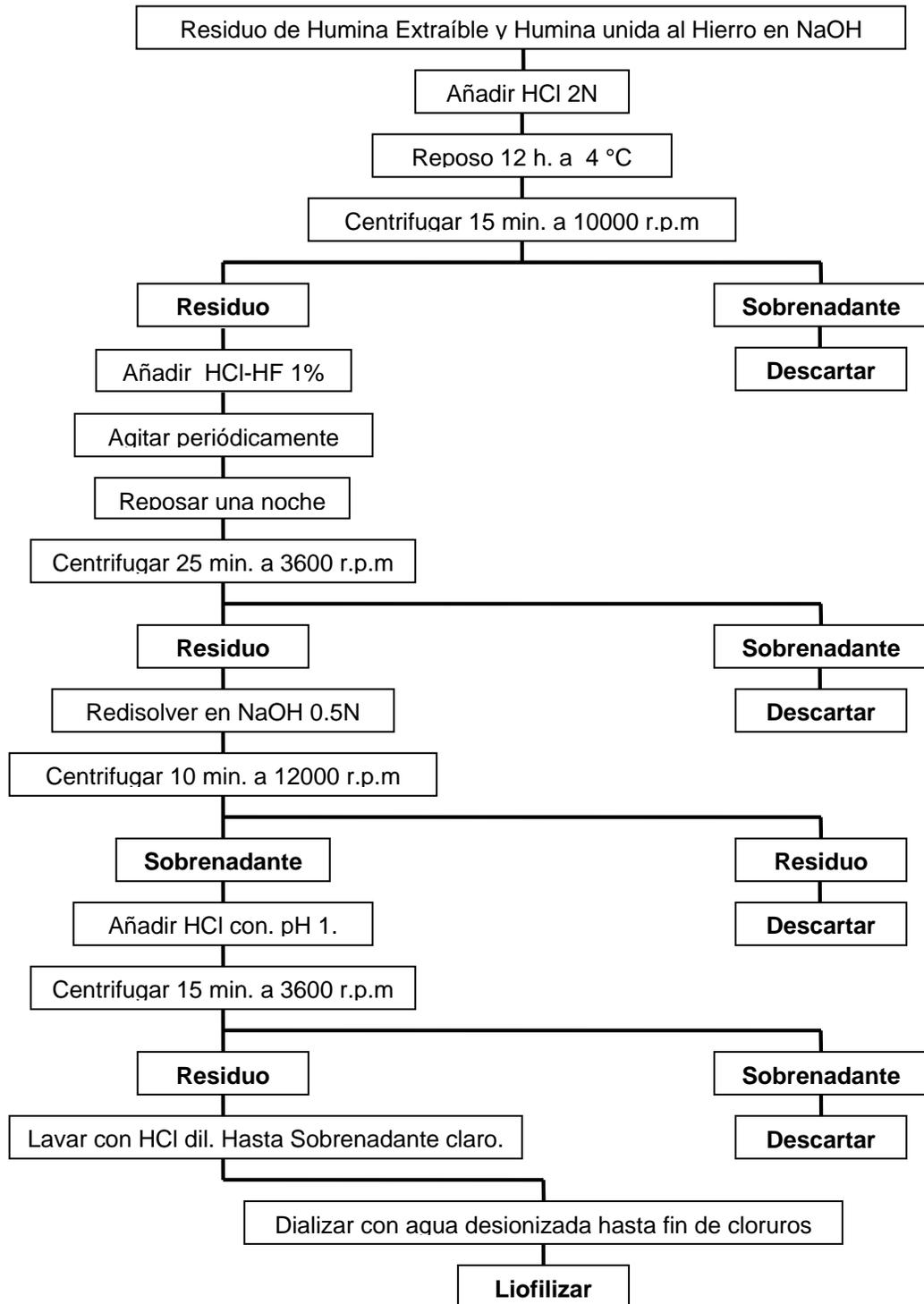
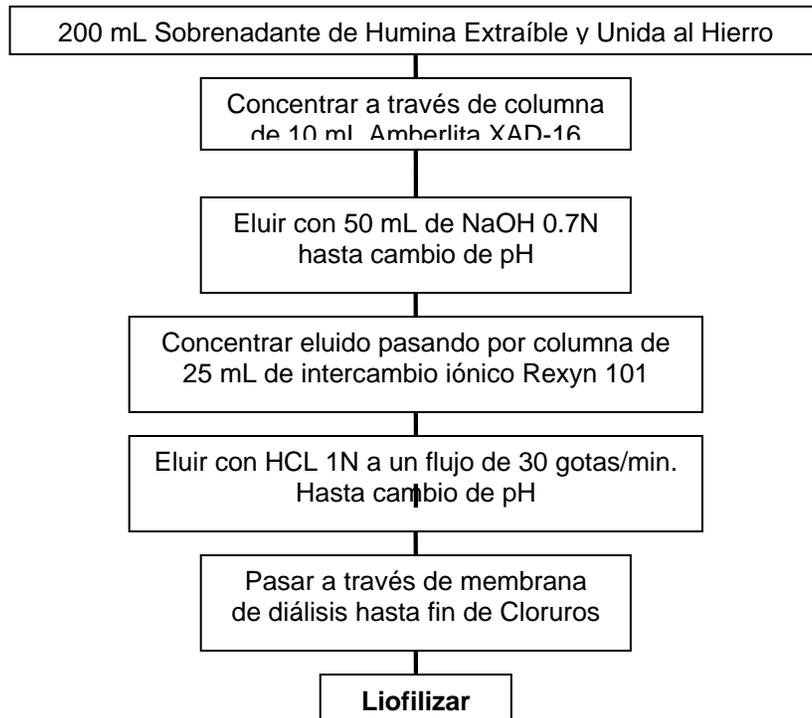


Figura 11. Purificación Sobrenadante de Humina de Insolubilización Extraíble y Unida al Hierro.



5.5 CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN HUMINA.

Con el objeto de realizar una caracterización preliminar de las diferentes fracciones de humina obtenidas se hicieron los siguientes análisis:

- Determinación de la Composición Elemental. Este análisis se realizó sobre las muestras de suelo y los residuos de la extracción usando para ello un Analizador Elemental LECO-1000, para tal efecto las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Carbones de INGEOMINAS.
- Espectroscopia Infrarroja. Se tomaron espectros IR de las huminas y de las muestras de suelo para determinar los principales grupos funcionales de las fracciones obtenidas.
- Relación E4/E6: las fracciones obtenidas se sometieron a mediciones de las bandas de absorción de 465 nm y 665 nm respectivamente; esto con el objeto de determinar el grado de condensación de las moléculas.
- Otros análisis de laboratorio: se realizaron análisis de laboratorio tales como pH, Carbono orgánico por el método de Walckley-Black y determinación de Nitrógeno por el método Kjeldahl. Todo esto con el fin de acercarse a las características y la composición química del residuo extraído.(34,35)

6. ANALISIS DE RESULTADOS

6.1 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO ANDISOL

Posterior a la obtención y secado de la muestra, se procedió a realizar el análisis físico y químico de la misma en el Laboratorio de Agroquímica de La Universidad del Cauca. En la Tabla 1 se reportan los resultados obtenidos.

Tabla 1. ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO ANDISOL.

Análisis Químicos.

pH	C (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N	P (ppm)	C.I.C meq/100g	C.I.C Efec. meq/100g	Ca meq/100g	Sat. Ca (%)	Mg meq/100g	Sat. Mg (%)	K meq/100g
5.22	9.6	16.5	0.85	11.3	2.2	65.6	2.4	0.96	40,0	0.28	11.7	0.13

Sat.K (%)	Ca+Mg/K	Na meq/100g	Sat. Na (%)	Sat. Bases (%)	Ca/Mg	Bases Tot.	Acidez Inter. meq/100g	Alumin. Inter. meq/100g	Sat. Al (%)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn ppm
5.42	9.54	0.12	5.0	62.1	3.43	1.49	0.91	0.65	27.0	0.04	11.6	0.09	0.15

Análisis Físicos.

HUMEDAD (%)	TEXTURA			CLASE TEXTURAL
	ARENA (%)	ARCILLA (%)	LIMO (%)	
10.7	20	13	68	FRANCO - LIMOSO

De los datos consignados en la Tabla 1 se puede ver que el suelo analizado se clasifica como Franco-Limoso. Esta clase textural asegura unas buenas cualidades para el desarrollo de las plantas por presentar un adecuado nivel de partículas finas, que brindan superficie activa, almacenaje de nutrientes y agua y una fracción gruesa que posibilita buena permeabilidad y aireación. Además tiene mayor tendencia a formar estructura, buena cohesión y plasticidad.

El valor de pH de la muestra analizada indica un carácter fuertemente ácido, sin embargo el contenido de Aluminio intercambiable se encuentra en un bajo nivel así como su porcentaje de saturación de Aluminio, que no implica una toxicidad fuerte por parte de este elemento. Por lo tanto la fuerte acidez se puede atribuir probablemente al alto contenido de materia orgánica. La baja actividad biológica generada por la fuerte acidez disminuye el nivel de mineralización o degradación de los restos orgánicos, formándose acumulaciones de estos cuyos grupos carboxílicos y fenólicos pueden disociarse y liberar iones H^+ , o a la deficiencia de bases intercambiables.

La relación C/N indica el ritmo de mineralización de la materia orgánica convirtiéndose de esta manera en un parámetro que señala la salud del suelo, para conocerla son necesarias las determinaciones separadas del Nitrógeno y del Carbono orgánico. Las concentraciones de ellos indicarán la riqueza del terreno. En la muestra el valor de esta relación está dentro del rango medio, indicando así una mineralización normal.

La acidez intercambiable está asociada con los sitios de intercambio iónico permanente y es debida principalmente a los iones de aluminio, hierro y manganeso. El contenido de Aluminio en la muestra de suelo analizada es bajo, lo mismo que su porcentaje de saturación y se encuentran dentro de los

niveles considerados no tóxicos, se puede atribuir probablemente al alto nivel de materia orgánica que tiene la capacidad de quelatar este elemento impidiendo así que pase a la solución del suelo.

Actualmente, está bien establecido que los coloides del suelo tienen un carácter anfótero, evidenciado por su poder de retención de iones, debido a cargas negativas y positivas libres en sus micelas; iones que pueden ser intercambiados por otros que se encuentran en la solución del suelo, originándose así el fenómeno de intercambio iónico. La muestra analizada presenta un valor alto de Capacidad de Intercambio Catiónico, atribuible también al alto contenido de materia orgánica, ya que los coloides orgánicos del suelo contribuyen a su aumento.

El contenido de Calcio es bajo aun cuando su saturación es media. El contenido de Magnesio es bajo, lo mismo que su saturación. El nivel de Potasio es bajo, pero su saturación es alta, propia de este tipo de suelo. El contenido de Sodio, así como su saturación son bajos. La relación Ca/Mg es normal. La relación Ca + Mg/K es muy baja debido a la deficiencia de las dos primeras bases.

La deficiencia de bases puede atribuirse a la pérdida por lavado, como lo evidencia el bajo valor de la Capacidad de Intercambio Efectiva (menor de 4) o a las continuas extracciones sin reposición. Sin embargo el porcentaje de saturación de bases es alto, siendo 2.3 veces superior al de Aluminio Intercambiable, factor favorable para este suelo, ya que genera que predominen las bases beneficiando las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, siempre y cuando se adecuen los niveles de las bases.

El nivel de fósforo es muy bajo, atribuido a la fuerte acidez que permite su adsorción por intercambio aniónico o por sustitución isomórfica o que se

precipite en forma de fosfatos insolubles que impiden la disponibilidad del Fósforo nativo.

Además presenta una fuerte deficiencia de elementos menores (Fe, Mn, Cu, Zn) probablemente debido a la fuerte quelatación por parte de la materia orgánica.

6.2 SEPARACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA FRESCA DE LA FRACCIÓN HUMIFICADA

Puesto que el aislamiento de la fracción húmica implica previamente la separación de la materia orgánica no humificada del suelo, de la materia orgánica ligada o humificada; este fraccionamiento se realizó mediante la combinación de dos metodologías, una basada en las diferencias de densidad de las fracciones y otra en las diferencias de tamaño entre los constituyentes de los complejos Órganominerales y otras partículas del suelo.

6.2.1 Separación Mediante Metodología Granulométrica.

Para este procedimiento se partió de un peso inicial de 115.837 g de suelo seco y tamizado en malla 2 mm. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 2. Distribución de fracciones de acuerdo con el método Granulométrico

MUESTRA	FRACCION >50 μ (MOF) (g)	%	FRACCION <50μ (MOH) (g)	%
ANDISOL	27.35	23.6	64.92	56.03

La mayoría de los procesos de transformación de la materia orgánica en el suelo son llevados a cabo por los microorganismos los cuales al utilizar las sustancias como fuente de carbono para su crecimiento los degradan, produciendo sustancias más simples. En la Tabla 2 es posible observar que la fracción menor de 50 μ presenta un mayor porcentaje, lo cual muestra que la cantidad de materia orgánica humificada que se encuentra unida a la fracción mineral es mayor que la no humificada. Con este resultado se puede afirmar que la mineralización de la materia orgánica es un proceso fuertemente influenciado por aquellos factores que afectan la actividad enzimática y el crecimiento microbiano, corroborando una mineralización normal dada por la relación C/N.

6.2.2 Separación Mediante Metodología Densimétrica.

Para la aplicación de este procedimiento se partió de 10 g de suelo seco y tamizado en malla 2 mm. En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 3. Distribución de fracciones de acuerdo con el método Densimétrico

MUESTRA	Materia Orgánica No Humificada (MOF) (g)	%	Materia Orgánica Humificada (MOH) (g)	%
ANDISOL	4.01	39.9	6.00	59.8

Los resultados de la Tabla 3 permiten observar nuevamente un mayor porcentaje de materia orgánica humificada corroborando con esto los datos obtenidos con el método granulométrico, también se observa que el porcentaje de materia orgánica libre extraído presenta un aumento considerable, esto se podría explicar por el hecho de que en este método no existe una separación de la materia orgánica comprendida entre 100 – 50 μ que no corresponde a la materia orgánica libre ni a la humificada y que por lo tanto se sumaría al valor obtenido para la materia orgánica libre ya que en la centrifugación no es posible separar esta fracción, conduciendo de esta manera a obtener un dato erróneo. Por lo tanto se puede analizar que es mejor utilizar el método granulométrico, así sea más dispendioso por que permite extraer adecuadamente las tres fracciones.

6.3 ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS FRACCIONES SEPARADAS

6.3.1 Método Granulométrico

Se realizó el análisis de carbono y nitrógeno para las fracciones separadas mediante el método granulométrico. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4 y Figura 12.

Tabla 4. Análisis Físicos y Químicos de las Fracciones Separadas por Granulometría.

MUESTRA	Humedad (%)	C (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N
FRACCIÓN >50 μ (MOF)	7.85	7.28	12.55	0.86	8.46
FRACCIÓN <50 μ (MOH)	9.01	10.29	17.8	1.31	7.85

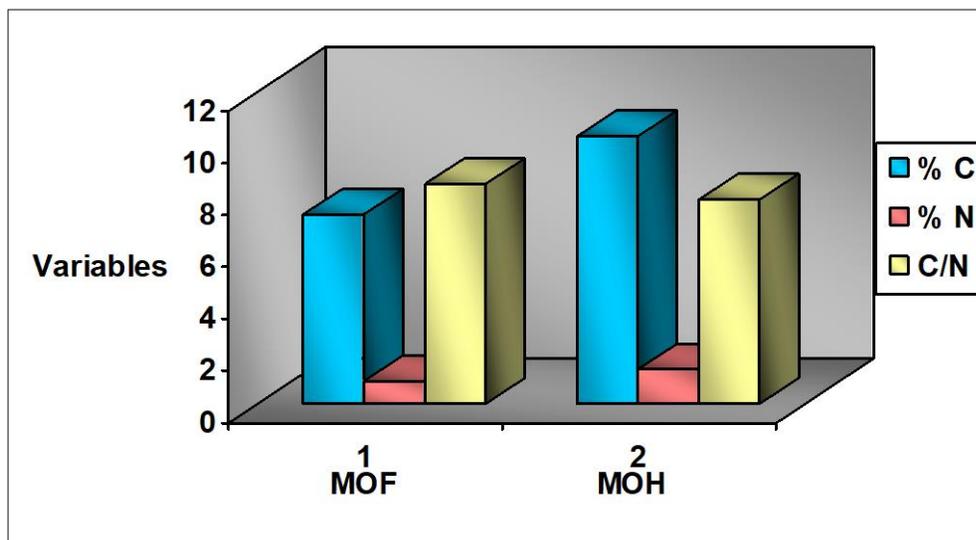


Figura 12. Análisis Físicos y Químicos de las Fracciones Separadas por Granulometría.

Analizando los datos presentados en la Tabla 4 y Figura 12 es posible concluir que los porcentajes de Carbono y Nitrógeno obtenidos para la Fracción Humificada son mayores que los de la no humificada corroborando con esto la presencia de un mayor contenido de materia orgánica humificada en el suelo y que la acción degradante ejercida por los microorganismos es buena, lo cual permite la transformación y oxidación adecuadas de la materia orgánica del suelo. La relación C/N obtenida para la fracción humificada,

indica que se ha dado una mayor transformación en esta fracción comparado con la materia orgánica fresca lo cual es característico de suelos bien aireados.

6.3.2 Método Densimétrico

Para esta fracción se realizó el análisis de carbono y nitrógeno. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 5 y Figura 13.

Tabla 5. Análisis Físico y Químico de las Fracciones de Materia Orgánica Separadas por Densimetría.

MUESTRA	Humedad (%)	C (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N
Materia Orgánica Libre (MOF)	10.3	7.71	13.29	0.89	8.66
Materia Orgánica Humificada (MOH)	11.6	9.71	16.74	1.16	8.37

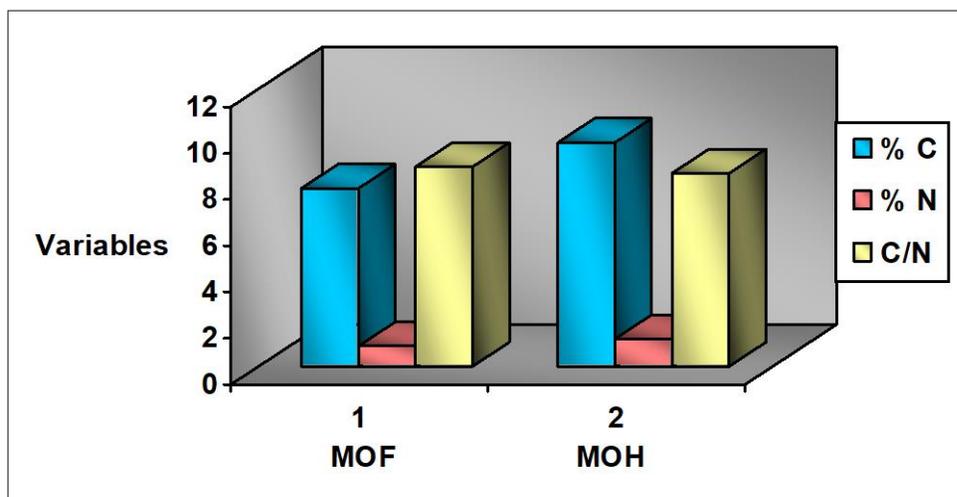


Figura 13. Análisis Físico y Químico de las Fracciones de Materia Orgánica Separadas por Densimetría.

Los datos presentados en la Tabla 5 y Figura 13 permiten observar nuevamente un mayor porcentaje de Carbono y Nitrógeno para la materia orgánica humificada lo cual confirma los resultados antes mencionados. Sin embargo en este caso no se aprecian diferencias significativas entre los valores de C/N, esto como consecuencia de la presencia en la materia orgánica fresca de compuestos orgánicos que aun están en proceso de humificación, lo cual provoca que se incremente esta relación.

6.4 SEPARACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE HUMINA HEREDADA.

La humina heredada está constituida por partículas de densidad menor de $1,8 \text{ g/cm}^3$ pero al contrario de lo ocurrido con la materia orgánica libre, se hallan retenidas en los agregados de la fracción pesada del suelo mediante uniones que no se rompen por medio de la agitación mecánica común, pero sí por la de los ultrasonidos. Para la extracción de esta fracción, se partió de 10,015 y 5,062 g de materia orgánica humificada (MOH) separada anteriormente por granulometría y densimetría respectivamente. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 6 y Figura 14.

Tabla 6. Porcentaje de Humina Heredada Extraída.

MÉTODO	HUMINA HEREDADA (g)	%
Granulométrico	1.19	11.89
Densimétrico	1.18	23.31

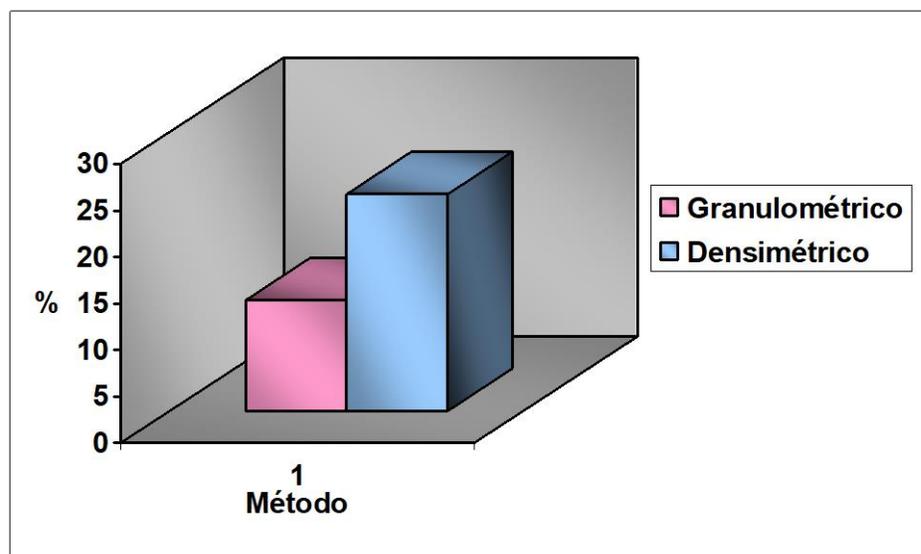


Figura 14. Porcentaje de Humina Heredada Extraída.

En la Tabla 6 y Figura 14 se puede observar que los porcentajes de Humina Heredada obtenidos para la muestra analizada son altos, esto debido posiblemente a la composición de esta fracción. La humina heredada es todavía semejante a la materia Orgánica Fresca y está compuesta principalmente por Lignina, que no se descompone, sino que se oxida parcialmente generando grupos $-COOH$ que facilitan enlaces más estables con las arcillas. Otro factor que determina altos porcentajes de humina heredada es el valor de pH, ya que en medios muy ácidos la actividad microbiana se ve afectada disminuyendo así la tasa de descomposición de

estos materiales y por tanto generando acumulación de ellos. Sin embargo esto puede representar un aporte para el suelo ya que esta fracción está formada por compuestos que solamente han sufrido transformaciones débiles y que por lo tanto permiten que los microorganismos presentes en el suelo continúen con la degradación y transformación de esta fracción en material aun más humificado. El mayor porcentaje de humina heredada obtenido por densimetría, se puede explicar ya que por este método se obtiene un menor porcentaje de materia orgánica humificada y la humina heredada corresponde a sustancias que aún están en proceso de humificación, por lo tanto se separan más fácilmente mediante esta técnica.

6.4.1 Análisis Químico de Humina Heredada

Con el objetivo de observar algunas de las características químicas de la humina heredada se realizó el análisis de carbono y nitrógeno. Los resultados se presentan en la Tabla 7 y en la Figura 15.

Tabla 7. Análisis Químico de la Humina Heredada.

MÉTODO	Humedad (%)	C (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N
Granulométrico	1.0	13.33	22.98	1.54	8.65
Densimétrico	1.0	10.90	18.8	1.29	8.44

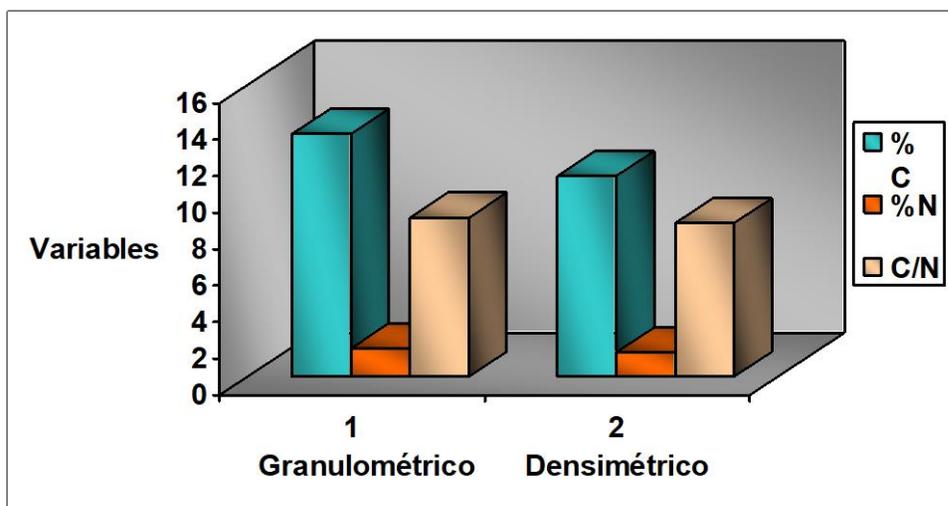


Figura 15. Análisis Químico de la Humina Heredada.

Analizando los datos reportados en la Tabla 7 y Figura 15 para la humina heredada se observa que los porcentajes de carbono y nitrógeno son altos y que la relación C/N es menor de 10, indicando con esto que esta fracción aún está en proceso de degradación y transformación y que aun no ha terminado el proceso de humificación, esto juega un papel muy importante en el suelo ya que se mantiene activa la vida microbiana con el objeto de acelerar la descomposición de estos restos orgánicos.

Las diferencias en los parámetros analizados para los dos métodos no son apreciables, sin embargo se detecta un ligero incremento en el porcentaje de

materia orgánica obtenido por el método granulométrico lo que corrobora que en el método densimétrico se obtiene como humina heredada material que aún no corresponde a esta fracción.

6.5 SEPARACION DE HUMINA A PARTIR DE LOS COMPLEJOS ORGÁNICO - MINERALES.

Puesto que el aislamiento de la fracción humina implica previamente la extracción de los compuestos húmicos solubles en los reactivos alcalinos se partió de 5,238 g de la fracción pesada de la muestra de suelo, producto del procedimiento realizado para la separación de la humina heredada, se procedió a obtener las principales fracciones de la materia orgánica humificada; para ello se realizaron extracciones sucesivas con Tetraborato de Sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 0.1N pH 9.7, Pirofosfato de Sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) 0.1 N pH 9.8 e Hidróxido de Sodio NaOH normalizado a pH 12; como residuo de esta extracción se obtiene la fracción insoluble conocida como Humina. En la Tabla 8 y Figura 16 se relacionan las propiedades químicas analizadas, así como el peso final obtenido.

Tabla 8. Análisis Químico y Porcentaje Final Obtenido para la Humina Extraída.

MÉTODO	FRACCIÓN HUMINA (g)	% HUMINA	Humed (%)	C (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N
Granulométrico	3.36	64.1	5.26	3.80	6.55	0.69	5.5
Densimétrico	2.82	75.49	5.21	3.79	6.53	0.84	4.51

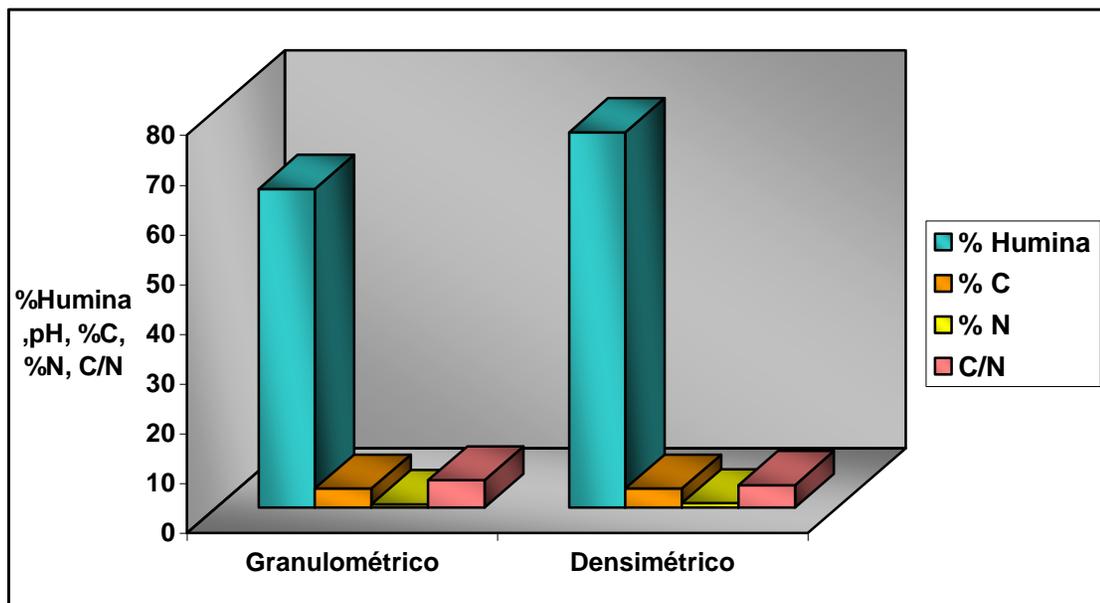


Figura 16. Análisis Químico y Porcentaje Final de Humina Extraído.

Las huminas se definen como la fracción no extraída por las soluciones alcalinas y constituyen un grupo de sustancias heterogéneas, de naturaleza y origen muy diferente. En la Tabla 8 se puede observar el alto porcentaje de esta fracción en la muestra de suelo analizada, encontrándose estos resultados acordes con los estudios reportados por Kiyoshi (1991), Kuwatsuka (1991), Stevenson (1982) y Duchaufour (1977), los cuales señalan que la humina forma del 50 al 80% de la materia orgánica del suelo.

Esto debido, según los investigadores, a que la fracción insoluble de los residuos orgánicos (celulosa, hemicelulosa, fenoles no combinados en las plantas, glúcidos y taninos) se descomponen liberando lignina y polifenoles; estos compuestos se oxidan enzimáticamente adquiriendo numerosos radicales carboxilo para el caso de la lignina y formando quinonas para los polifenoles, lo que permite su unión química muy fuerte a la fracción mineral y a los cationes del suelo, generándose así el carácter insoluble de la humina.

No se manifiestan diferencias significativas entre las propiedades químicas de las huminas extraídas por los dos métodos, sin embargo la relación C/N de la humina obtenida con el método densimétrico es menor que el valor obtenido por el método granulométrico corroborando nuevamente que por densimetría se extrae materia orgánica con menor grado de humificación.

6.5.1 Separación de Ácidos Fúlvicos y Ácidos Húmicos.

Con el objeto de continuar con la extracción y purificación de las huminas y de correlacionar el grado de humificación con el valor de humina extraída se partió de los sobrenadantes de Tetraborato, Pirofosfato e Hidróxido de Sodio obtenidos en la extracción de la fracción insoluble humina y se realizó la separación de los ácidos Húmicos y Fúlvicos de la muestra analizada. Los resultados obtenidos se presentan en las Tablas 9,10 y Figuras 17,18.

Tabla 9. Efecto del extractante sobre el % C de AH y % C de FF para el Andisol Extraído por Granulometría.

SOLUCIÓN EXTRACTANTE	% CE	C AH (%)	C FF (%)
Tetraborato de Sodio	1.46	1.11	0.98
Pirofosfato de Sodio	0.80	0.78	0.40
Hidróxido de Sodio	0.31	0.0065	0.013

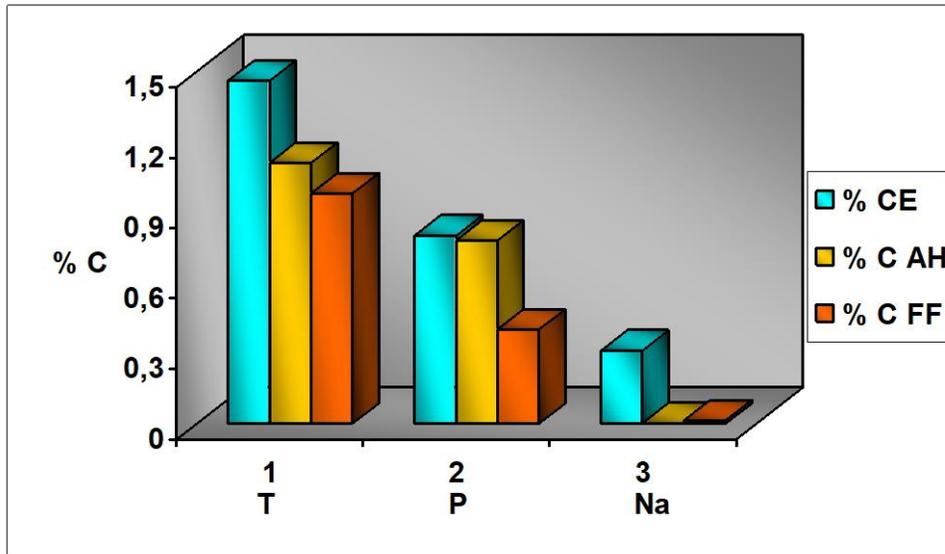


Figura 17. Efecto del extractante sobre el % C de AH y % C de FF para el Andisol Extraído por Granulometría.

En la Tabla 9 y Figura 17 se puede observar que el mayor porcentaje de carbono extraíble para la separación por granulometría se presentó con el Tetraborato de Sodio, lo cual indica que en la muestra analizada predominan los enlaces electroestáticos de fácil rompimiento por intercambio iónico, sobre los enlaces de coordinación y los órganominerales con la materia

orgánica. Según los reportes en la literatura de Cegarra (38) y Davila (40) la posible reacción que se presenta en este proceso es la siguiente:



R = Grupo Alquilo

Ahora, el orden de extracción para la muestra analizada sería Tetraborato > Pirofosfato > Hidróxido de Sodio. Esto concuerda con los trabajos reportados (38,40) donde se indica una mayor predominancia de enlaces débiles con la materia orgánica. Con este resultado se puede deducir que la mayor proporción del humus de la muestra se encuentra en forma de complejos poco estables y polimerizados.

En cuanto al porcentaje de carbono de la Fracción Fúlvica es posible observar que el Tetraborato de Sodio extrae la mayor cantidad de carbono, corroborando de esta manera el predominio en la muestra de enlaces electrostáticos. Este resultado concuerda, ya que los ácidos fúlvicos son moléculas poco condensadas y más móviles, por lo cual están unidas menos fuertemente a la fracción mineral.

Tabla No 10. Efecto del extractante sobre el % C de AH y % C de FF para el Andisol Extraído Mediante Método Densimétrico.

SOLUCIÓN EXTRACTANTE	% CE	C AH (%)	C FF (%)
Tetraborato de Sodio	1.18	0.98	0.59
Pirofosfato de Sodio	1.02	0.97	0.42
Hidróxido de Sodio	0.32	0.06	0.13

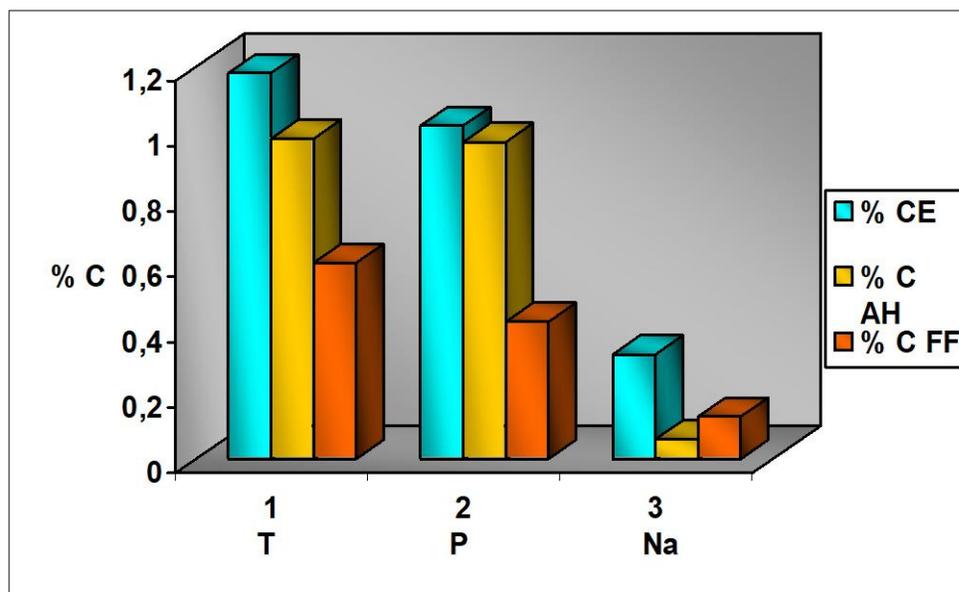


Figura 18. Efecto del extractante sobre el % C de AH y % C de FF para el Andisol por Densimetría.

De la Tabla 10 y Figura 18 se puede deducir que el mayor porcentaje de carbono extraíble para la separación densimétrica se obtuvo con Tetraborato de Sodio, presentando un orden de extracción para la muestra así: Tetraborato > Pirofosfato > Hidróxido de Sodio. Esto indica claramente que la

muestra presenta mayor cantidad de sustancias con enlaces electrostáticos de fácil separación de la fracción mineral por intercambio iónico.

En cuanto al porcentaje de carbono de la fracción fúlvica es posible observar la misma tendencia, es decir hay mayor porcentaje de extracción con el Tetraborato de Sodio, esto ya que los ácidos fúlvicos son moléculas de mayor solubilidad y menor grado de polimerización por lo tanto se extraen más fácilmente.

Se sigue observando que las moléculas extraídas con NaOH mediante el método granulométrico presentan una mayor tendencia a la humificación que las extraídas por el método densimétrico y que las moléculas unidas a la fracción mineral por enlaces de coordinación tienen tendencia a presentar mayor grado de humificación cuando se extraen mediante el método densimétrico.

6.6 EXTRACCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA FRACCIÓN HUMINA

Bajo el término de huminas se engloba el grupo de sustancias que no se extraen con soluciones alcalinas, incluso por tratamientos múltiples. Esta fracción está constituida por sustancias humicas pero que están ligadas fuertemente a las arcillas, por lo que son de difícil extracción. La insolubilización de la fracción humina en álcalis, en las condiciones del suelo, puede ser el resultado de la alteración de las propiedades químico-coloidales, provocada por la interacción de las sustancias humicas con la fracción mineral del suelo. (36)

Al estudio de la naturaleza de las huminas del suelo están dedicadas investigaciones de McGown, Moberg et al (1996), Simon y Dankwardt (1997), Brown y McCarthy (1998), Engebretson y Wandruszka (1999) (2000), Pelekani,

Newcombe et.al (1999), Chiou y Rutherford (2000), Galeska, Moussy et. al (2001), Simpson, Kingery et al (2003). Quienes han demostrado que, si el residuo de suelo o humina, se trata con H_2SO_4 , HNO_3 o HF , para romper los enlaces de las sustancias húmicas con los silicatos, y después este residuo, que contiene huminas, se trata con soluciones alcalinas se extraen nuevamente ácidos húmicos.

Actualmente se conocen diferentes formas de humina, cuya abundancia relativa está sujeta a diferentes factores que actúan sobre la evolución y que además confieren un carácter diferencial a los distintos tipos de suelos.

6.6.1 Humina unida al Hierro, Humina de Insolubilización Extraíble y Humina de Insolubilización No Extraíble.

El método aplicado, con el objeto de evaluar las diferentes fracciones de la humina, se basó en el grado de reactividad de la fracción frente a determinados agentes reductores como el Ditionito de Sodio y frente a la acción de un tratamiento ácido ($HCl - HF$).

Para este procedimiento se partió del residuo insoluble humina extraído anteriormente usando para ello metodología granulométrica y densimétrica separadamente.

En la Tabla 11 y Figura 19 se reportan los datos obtenidos para la humina unida al hierro y humina extraíble fraccionadas a partir del residuo humina obtenido utilizando metodología granulométrica.

Tabla 11. Porcentaje de Carbono para las Fracciones de Humina Extraídas a partir de Humina Separada por Granulometría

FRACCIÓN	% CE	C AH (%)	C FF (%)
Humina - Hierro	1.04	0.22	0.12
Humina Extraíble	1.41	0.24	0.10

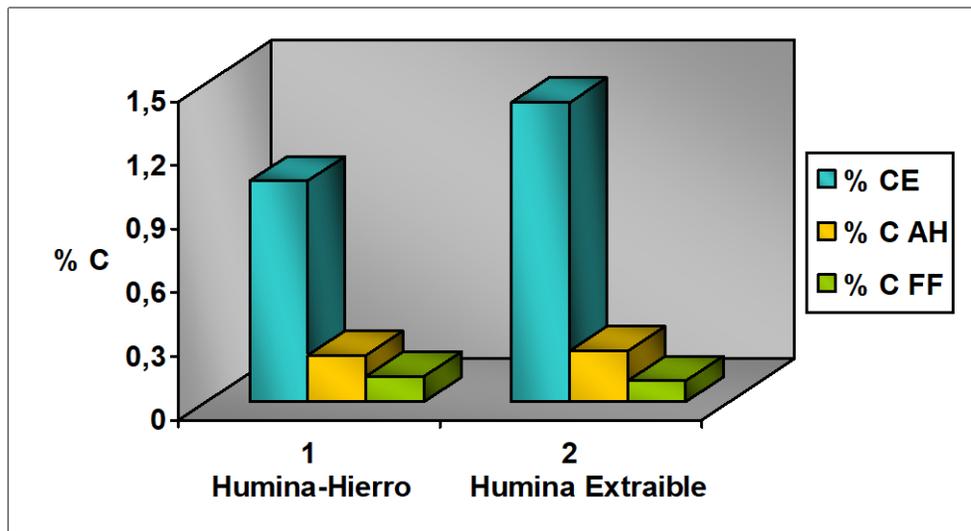


Figura 19. Porcentaje de Carbono para Fracciones de Humina Extraídas a partir de Humina Separada por Granulometría

En los datos reportados en la Tabla 11 y Figura 19 se puede observar un mayor porcentaje de carbono para la fracción humina de Insolubilización extraíble, esto podría indicar un proceso de humificación rápido que generó fracciones de neoformación. Fracciones debidas posiblemente a la degradación bioquímica de la lignina y taninos que producen precursores fenólicos, aumentando el tamaño de las moléculas y disminuyendo así su solubilidad. Este proceso se ve favorecido por la presencia de cationes como

Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} . El Ca^{2+} actúa insolubilizando los precursores y bloquea la mineralización de los ácidos fúlvicos mientras que el Fe^{3+} y el Al^{3+} son adsorbidos en la superficie de las arcillas insolubilizando y polimerizando los compuestos húmicos de las partículas de arcilla. Estos resultados también podrían indicar la presencia de complejos Humus – Al y Humus – hidróxidos de hierro, ya que este tipo de suelos por su carácter ácido y su origen volcánico, debería presentar una mayor cantidad de aluminio intercambiable indicando que está fuertemente quelatado por la materia orgánica del suelo. Lo anterior ha sido ampliamente demostrado en los estudios realizados por Andreux (31) y Arango (39).

En cuanto al porcentaje de carbono de humina unida al hierro y humina extraíble se observa que tienen una cantidad de carbono algo inferior a los ácidos húmicos propiamente dichos. Sin embargo los índices de humificación de las mismas, son mejores que los valores obtenidos para los ácidos húmicos. Esto podría indicar que la estructura de estas huminas es mucho más compleja y podría presentar un mayor grado de condensación. También se puede apreciar en la tabla 11 que la humina extraíble presenta mayor complejidad que la unida al hierro ya que el índice de humificación obtenido para esta fracción es menor.

En la Tabla 12 y Figura 20 se reportan los datos obtenidos para la humina unida al hierro y humina extraíble fraccionadas a partir del residuo humina obtenido utilizando metodología densimétrica.

Tabla 12. Porcentaje de Carbono para las Fracciones de Humina Extraídas a partir de Humina Separada por Densimetría.

FRACCIÓN	% CE	C AH (%)	C FF (%)
Humina - Hierro	1.35	0.28	0.18
Humina Extraíble	1.59	0.19	0.21

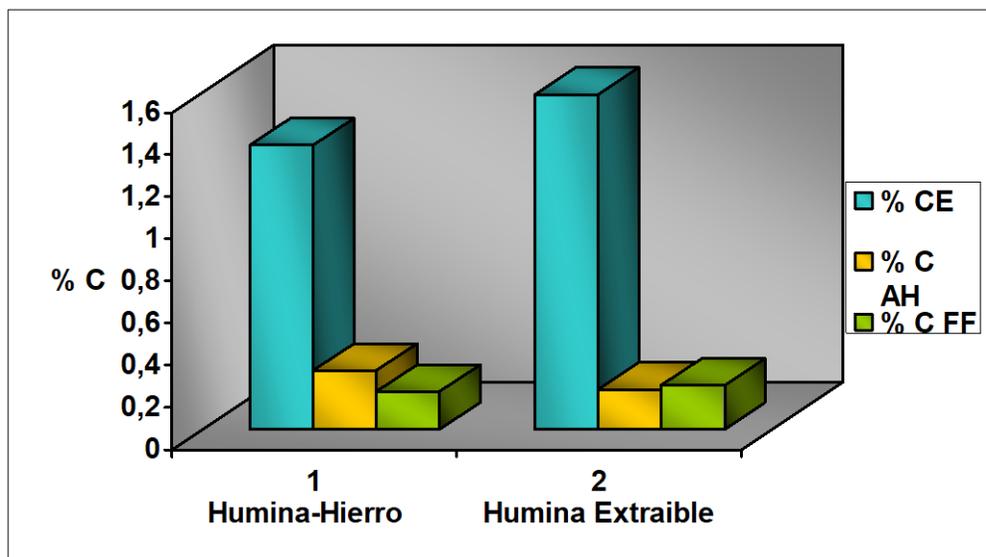


Figura 20. Porcentaje de Carbono para las Fracciones de Humina Extraídas a partir de Humina Separada por Densimetría.

En los datos reportados en la Tabla 12 y Figura 20 se puede observar nuevamente un mayor porcentaje de humina de Insolubilización extraíble corroborando así los resultados obtenidos utilizando metodología granulométrica.

Comparando las fracciones extraídas por los dos métodos se puede apreciar que con el método granulométrico se obtiene en la humina extraíble mayor

grado de condensación que la humina extraída con el método densimétrico indicando así un mayor grado de separación al aplicar esta metodología.

6.6.2 Humina de Insolubilización No Extraíble

La humina de Insolubilización procede de la precipitación e Insolubilización irreversible de los precursores solubles de ácidos húmicos. Esta fracción se obtiene después del tratamiento de la humina con un reductor como el Ditionito de Sodio y con una mezcla de ácidos (HCl – HF) quedando así un residuo denominado humina de Insolubilización no extraíble.

En la Tabla 13 y Figura 21 se reportan las propiedades químicas para la humina de insolubilización no extraíble separada a partir del residuo humina que se obtuvo al utilizar metodología granulométrica y densimétrica.

Tabla 13. Propiedades Químicas para la fracción Humina de Insolubilización No Extraíble

HUMINA NO EXTRAIBLE	H (%)	C (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N
Granulométrico	11.4	4.41	7.60	0.52	8.50
Densimétrico	6.5	4.60	7.92	0.40	11.5

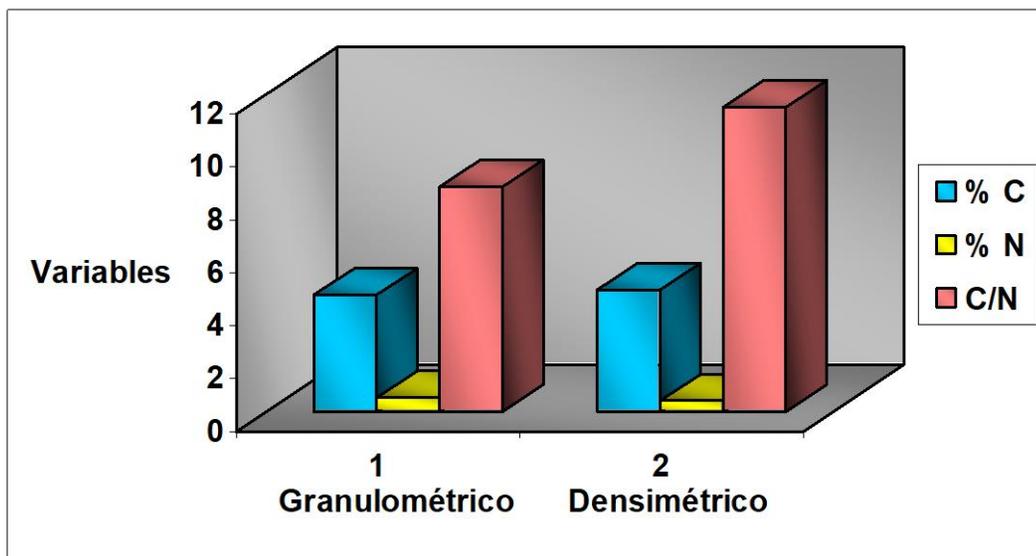


Figura 21. Propiedades Químicas para la fracción de Humina de Insolubilización No Extraíble

En los datos consignados en la Tabla 13 y Figura 21 se puede observar que no hay diferencias significativas entre los resultados obtenidos para la humina de insolubilización no extraíble, y que los porcentajes de carbono presentan valores altos. Esto podría indicar la precipitación de compuestos liginicos oxidados bajo la forma de sustancias polimerizadas, estableciéndose así una unión muy sólida con las arcillas, esto se ve favorecido por la

presencia de Calcio, Hierro y Aluminio que constituyen los principales cationes de enlace entre las arcillas y los polímeros húmicos, con lo cual la formación del complejo arcillo-húmico es evidente a pesar de la composición de las arcillas.

Otro proceso que ayuda en la polimerización e Insolubilización de esta fracción es la oxidación enzimática de ciertos sustratos fenólicos sencillos; estos se polimerizan y fijan cadenas de proteínas y grupos NH_3 libres produciendo un polímero fenólico de carácter insoluble.

Todos estos complejos son muy estables ya que están protegidos de la acción microbial por la retención de enzimas generada debido a los productos minerales amorfos.

6.7. PURIFICACION DE LA HUMINA UNIDA AL HIERRO Y HUMINA EXTRAIBLE

El objeto de purificar los extractos de humina unida al hierro y humina extraíble, como ácidos fúlvicos, es eliminar las sales que estos puedan contener.

Para esto se utilizó inicialmente una resina de adsorción Amberlita XAD-16, que adsorbe moléculas de bajo a mediano peso molecular como los Ácidos Fúlvicos (AF) y elimina las sales provenientes de los extractantes. Para su recuperación, se eluyó con NaOH 0.7 N, obteniendo las huminas en forma de sales de NaOH .

Debido a la alta concentración del hidróxido utilizado, los valores de pH del extracto eluído son altos, esto se puede observar en la columna I de la Tabla 14.

Posteriormente se pasó esta solución por una resina de Intercambio catiónico como la Rexyn 101H con grupos activos RSO_3^- , que eliminó la mayor parte de Na^+ intercambiándolo por iones H^+ ya que las muestras fueron eluidas utilizando HCl 1N. En la Tabla No 14, columna II se muestran los valores de pH de las muestras eluidas.

Tabla 14. Resultados de la Purificación Secuencial de Humina Unida al Hierro y Humina Extraíble. Ácidos Fúlvicos

FRACCIONES DE HUMINA		pH eluído a través de Amberlita XAD-16 (I)	pH eluído a través de Rexyn 101 H (II)	pH eluído a través de Membrana de diálisis (III)
Humina Unida al Hierro	Granulométrico	13.35	1.88	4.30
	Densimétrico	13.36	1.86	4.33
Humina de Extraíble	Granulométrico	13.37	1.60	4.31
	Densimétrico	13.35	1.73	4.30

Como la purificación no es completa, pues aun quedan sales, las muestras obtenidas fueron sometidas a diálisis utilizando para ello una membrana de celulosa con tamaño de poro de 3500 daltons, registrando constantemente el pH. Los valores de pH obtenidos se reportan en la Tabla No 14, columna III. Con los ácidos fúlvicos ya purificados, se procedió a liofilizar las muestras con el fin de obtenerlos en estado sólido.

Para la purificación de humina unida al hierro y humina extraíble, como ácidos húmicos, los extractos en hidróxido de sodio 0.5 N fueron sometidos a continuas precipitaciones con HCl y redisoluciones en NaOH con el objetivo de eliminar impurezas inorgánicas y orgánicas.

Las muestras fueron lavadas con HCl y el precipitado rediseuelto en solución de NaOH 0.1N. En la tabla No 15, columna I se presentan los valores de pH de los extractos antes de ser dializados. Posteriormente se sometió a diálisis, utilizando para ello una membrana de 12000 daltons. Después de 72 horas los valores de pH oscilaron alrededor de 4.0 indicando así el final del proceso. En la Tabla No 15, columna II se presentan los valores obtenidos.

Tabla 15. Resultados de la Purificación Secuencial de Humina Unida al Hierro y Humina Extraíble. Ácidos Húmicos

FRACCIONES DE HUMINA		pH Ácidos Húmicos en NaOH 0.1N (I)	pH Ácidos Húmicos después de Diálisis (II)
Humina Unida al Hierro	Granulométrico	13.35	4.46
	Densimétrico	13.33	4.40
Humina de Extraíble	Granulométrico	13.36	4.33
	Densimétrico	13.36	4.35

Una vez purificadas las fracciones de humina unida al hierro y humina de insolubilización extraíble, fueron sometidas a liofilización con el objetivo de eliminar el agua presente en las muestras ya que para los análisis aplicados posteriormente se requería la muestra totalmente seca.

6.8. CARACTERIZACION DE LA FRACCION INSOLUBLE HUMINA

La caracterización de las diferentes fracciones que integran la humina se realizó mediante técnicas tales como UV-Vis, Infrarrojo, y Análisis Elemental.

A continuación se reportan los resultados obtenidos.

6.8.1 Relación E_4/E_6 para las Diferentes Fracciones de Humina Separadas

La relación E_4/E_6 es un índice que suele emplearse para evaluar el grado de condensación de las sustancias húmicas. Schnitzer and Khan (1972) reportan una relación inversa entre el grado de condensación y la relación E_4/E_6 esperándose que esta última disminuya con la complejidad de las sustancias húmicas.

Su determinación es muy simple desde el punto de vista analítico, el material húmico se disuelve con una solución 0.05 M de la sal básica NaHCO_3 ; a la solución resultante se le mide el grado de absorción de radiación a dos longitudes de onda: 465 y 665 nm; el respectivo índice se define como el cociente de estas dos absorbancias. Generalmente, este índice permite diferenciar los ácidos húmicos de los fúlvicos; se considera que valores superiores a 5, son propios de los ácidos fúlvicos. Kononova (1966).

Se ha considerado; Stevenson, (6) que mientras más compleja estructuralmente es la molécula de la sustancia húmica; es decir, un mayor contenido de carbono haciendo parte de estructuras altamente conjugadas;

menor es el valor de la relación E_4/E_6 . Chen, (43). Estos hechos han sido confirmados utilizando espectroscopia de ^{13}C RMN. Négre(51).

En la Tabla 16 se reportan los datos de la relación E_4/E_6 para la humina extraíble y humina unida al hierro, fracciones separadas a partir del residuo humina que se obtuvo al utilizar metodología granulométrica y densimétrica.

Tabla No 16. Relación E_4/E_6 para Humina Extraíble y Humina Unida al Hierro.

FRACCIONES DE HUMINA		Abs. 465 nm	Abs. 665 nm	E_4/E_6
Humina Unida al Hierro	Granulométrico	1.9565×10^{-2}	2.0289×10^{-3}	9.64
	Densimétrico	2.3548×10^{-2}	2.4405×10^{-3}	9.65
Humina de Extraíble	Granulométrico	3.1009×10^{-3}	2.9454×10^{-3}	1.05
	Densimétrico	1.3334×10^{-2}	1.2295×10^{-2}	1.08

En primer lugar se observa que el método de separación de las fracciones humicas no tiene influencia en la relación E_4/E_6 ya que no hay diferencias apreciables entre los valores obtenidos para los dos métodos. Esto indicaría que el método de separación de las sustancias humicas no tiene influencia en la caracterización.

La Humina unida al hierro es la fracción extraíble con un reductor suave (Ditionito de Sodio) que compleja la materia orgánica y libera al hierro, es decir la humina que se una a la arcilla a través de este elemento.

La Humina Extraíble es la fracción obtenida por extracción con HCl-HF que destruye las uniones de la arcilla con la humina y de esta manera la libera. Se observa que el valor de la relación E_4/E_6 de la humina unida al hierro es 8.6 veces superior al de la humina extraíble indicando que esta última es de

mayor complejidad estructural, es decir presenta un mayor contenido de carbono haciendo parte de su estructura altamente conjugada.

Senesi (48) reporta valores de la relación E_4/E_6 para ácidos húmicos y fúlvicos en suelos de 5.0 y 9.6 respectivamente, pero no se encuentran valores para las diferentes fracciones de humina.

Los resultados encontrados indican por lo tanto que la humina unida al hierro presenta más bajo grado de condensación y podría indicar por lo tanto menor complejidad estructural en su molécula.

6.8.2 Análisis Elemental de las Fracciones de Humina Extraídas.

En la caracterización de las sustancias húmicas se ha utilizado el análisis elemental como una herramienta que permite establecer el grado de humificación, considerando diversas relaciones elementales: N/C, H/C, O/C, etc. Senesi, (48). En la Tabla 17 se reportan los resultados obtenidos para las diferentes fracciones de humina separadas.

Tabla No 17. Composición Elemental CHN Y S para las Diferentes Fracciones de Humina.

MUESTRA	COMPOSICION ELEMENTAL (%)					RELACIONES ATOMICAS					
	C	H	N	S	O	H/C	O/C	N/C	O/H	C/H	C/N
Humina Heredada	19.28	3.98	1.21	0.14	75.39	2.48	2.93	0.054	1.18	0.40	18.6
Humina	6.03	2.45	0.29	0.06	91.17	4.88	11.3	0.041	2.32	0.21	24.3
Humina Unida al Hierro	48.71	6.44	1.13	0.03	43.69	1.59	0.67	0.020	0.42	0.63	50.3
Humina Extraíble	25.25	5.02	0.56	0.01	69.16	2.38	2.05	0.019	0.86	0.42	52.6
Humina No Extraíble	4.87	1.41	0.08	0.01	93.63	3.47	14.4	0.014	4.15	0.29	71.02

La humina heredada es aquella derivada directamente de la lignina mediante una transformación incompleta, es decir la pérdida de grupos metoxi de la lignina y la adquisición de grupos carboxílicos con uniones lábiles a las arcillas, de fácil rompimiento con la aplicación de ultrasonidos. Al observar la composición elemental para esta fracción, reportada en la Tabla 17, se detecta un mayor contenido de carbono, hidrogeno, nitrógeno y azufre pero menor contenido de oxigeno que la humina total.

El análisis elemental indica que la humina total presenta un contenido bajo de carbono, indicando su unión a los minerales arcillosos del suelo que presentan alto contenido de oxígeno, como en se observa en los datos reportados para esta fracción. Lo mismo indicaría el bajo contenido de nitrógeno y azufre encontrado.

Comparando la composición elemental de la humina unida al hierro con la humina extraíble se puede apreciar que en esta última hay menor valor de carbono, hidrogeno, nitrógeno y azufre pero mayor valor de oxigeno que la primera, indicando que en la humina unida al hierro todavía hay materia orgánica unida a la arcillas, mientras que en la humina extraíble ya se ha logrado el proceso completo de separación de la fracción mineral.

Las dos fracciones anteriores pueden indicar por lo tanto que las huminas presentan características propias de ácidos húmicos, lo cual explicaría su acidez y capacidad complejante de metales como lo sugiere Rice (45) y Seunghun (52).

En cuanto a la humina no extraíble que corresponde a la fracción totalmente insoluble en medio ácido y alcalino, presenta un nivel muy bajo de carbono, nitrógeno y azufre pero un nivel muy alto de oxigeno propio de los minerales

arcillosos a los que está ligada. Estos minerales arcillosos contribuyen a la capacidad de intercambio catiónico y a la capacidad de enlazarse a la fracción húmica.

De acuerdo a Schnitzer (47), Senesi (48) y Arango (41) el grado de aromaticidad está dado por la relación H/C cuyo valor límite de alto grado de aromaticidad es 1. En esta investigación se encontró para todas las fracciones de humina extraídas valores muy superiores a 1, conduciendo esto a un bajo o ningún grado de aromaticidad. Comparando la humina unida a hierro con la extraíble se encuentra que esta última presenta un valor superior de H/C lo que podría indicar la presencia de moléculas alifáticas de mayor complejidad que las presentes en la humina unida al hierro, corroborando así lo encontrado en la relación E_4/E_6 descrita anteriormente.

De acuerdo a Kiyoshi la fracción humina contiene mayor cantidad de compuestos altamente alifáticos. Lo mismo que el valor superior de la relación H/C de la humina extraíble comparado con la humina unida al hierro puede indicar también la presencia de lípidos y de estructuras alifáticas altamente ramificadas, que contribuyen al carácter hidrofóbico de esta fracción y le confiere la habilidad para retener compuestos no polares tales como la mayoría de los pesticidas aplicados en la región para el control de múltiples plagas, disminuyendo de esta manera apreciablemente el impacto negativo que generan dichos plaguicidas al caer al suelo. El mismo autor sugiere que la fracción de humina presenta una composición química muy similar a la de la Lignina.

De otra parte la relación O/H indica también un mayor grado de oxidación en la fracción de humina de insolubilización extraíble con respecto a la humina unida al hierro indicando nuevamente una mayor complejidad estructural.

En cuanto a la relación N/C se aprecia que la humina unida al hierro y la humina extraíble presentan valores muy parecidos y similares a los reportados por Kiyoshi y otros autores para las huminas extraídas de otro tipo de suelos. Estos valores son bajos y podrían indicar posiblemente la presencia de lignoproteínas y melaninas provenientes de residuos de plantas y hongos en diferentes estados de descomposición como lo sugiere Rice (26)

Las relaciones atómicas de la humina no extraíble indican una relación O/C muy alta precisamente debido a la poca fracción orgánica presente en esta humina y alto contenido de oxígeno propio de los minerales arcillosos. También podría indicar la abundancia de Oxígeno que pueden contener los grupos funcionales que conforman la estructura. Igualmente se aprecia alta relación H/C y O/H.

En la humina total igualmente se aprecian alta relación H/C y O/H debido a que como se explicó anteriormente aún está unida a la fracción mineral que presenta alto contenido de oxígeno y de hidrógeno propio de aluminosilicatos, óxidos de hierro y de arcillas tipo 1:1 principalmente.

En la humina hereda la relación H/C, O/C y O/H son superiores a los de la humina unida al hierro y los de la humina extraíble debido a que su reacción de formación es considerada como una vía indirecta de humificación en donde se cambian grupos metoxi por carboxílicos.

6.8.3. Análisis IR para las Distintas Fracciones de Humina Separadas

Las sustancias húmicas extraídas del suelo, y entre ellas las huminas, no son un único compuesto químicamente puro, por lo tanto las bandas de absorción no son tan características de una sola sustancia, sino de un conglomerado de moléculas.

Las Figuras 22, 23, 24, 25 y 26 se muestran los espectros IR de las diferentes fracciones de humina obtenidas a partir de sustancias húmicas utilizando metodología granulométrica, ya que por este método se obtuvo una mayor eficiencia en la extracción y no influyó en el proceso de caracterización.

6.8.3.1 Espectros IR para las Fracciones Humina Heredada y Humina.

En las Figuras 22 y 23 se muestran los espectros IR para la Humina y Humina Heredada y se analizan sus principales bandas de absorción.

Figura 22. Espectro IR para la Fracción Humina Hereda

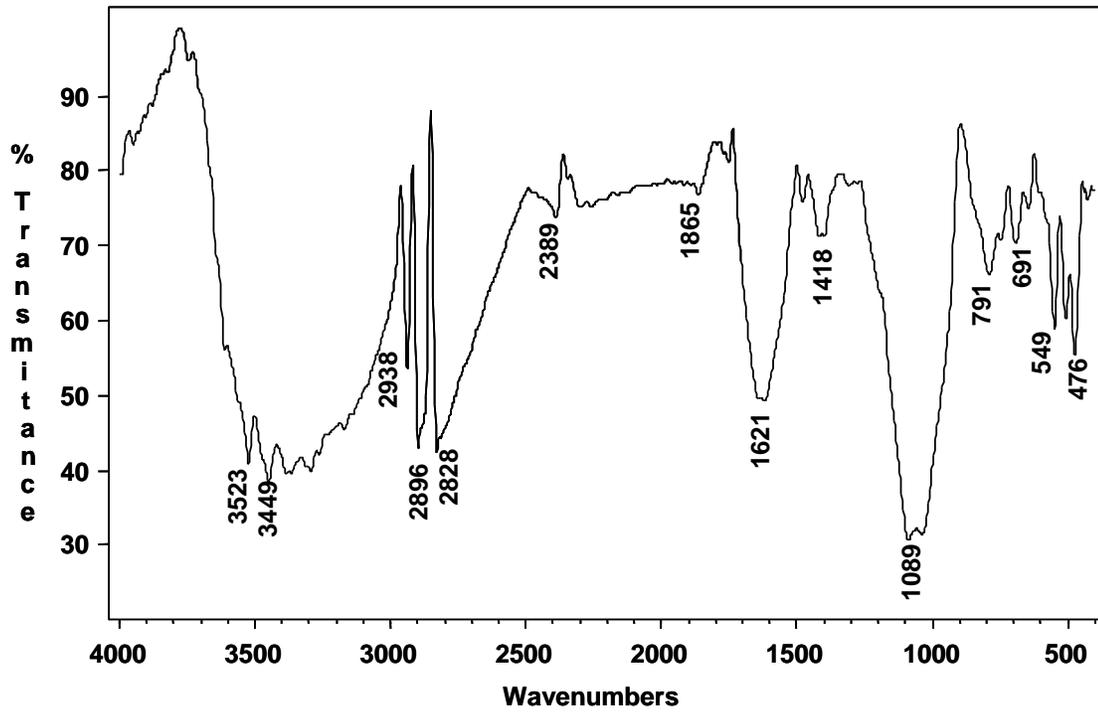
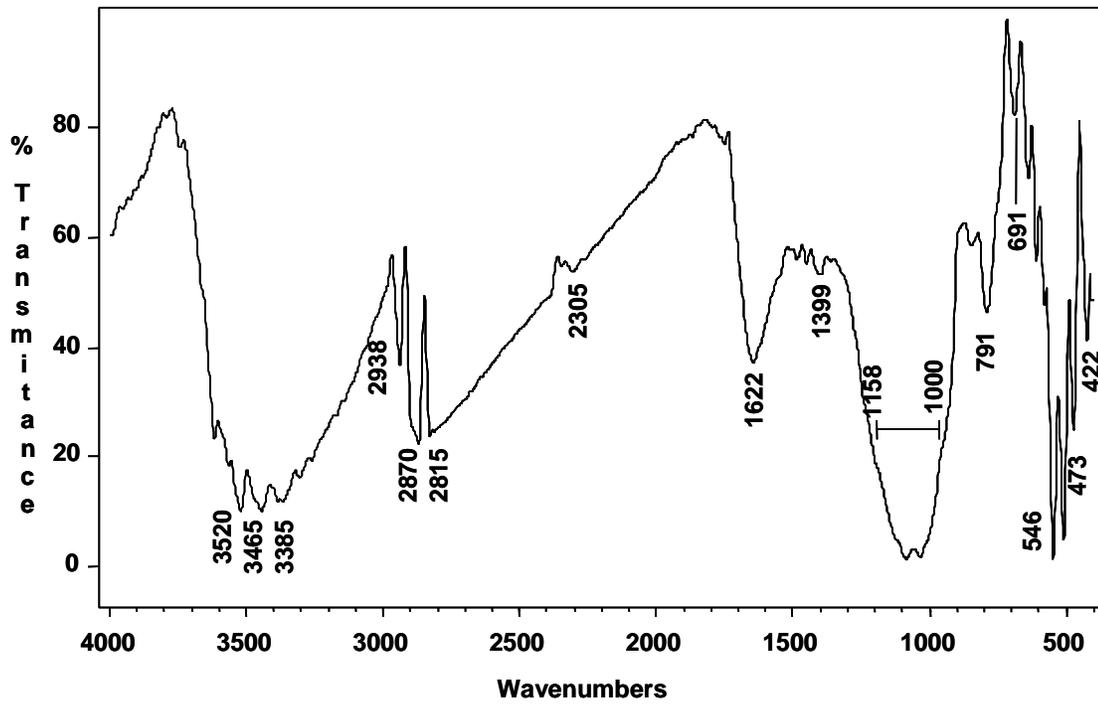


Figura 23. Espectro IR para la Fracción Humina



Las principales bandas de absorción de los espectros IR para la humina heredada y humina se presentan a continuación.

3449 y 3523 cm^{-1} : En esta región se presenta una tensión de H enlazado a –OH alcohólico. Banda de absorción ancha y fuerte, característica de las sustancias humicas y generalmente es atribuida a residuos celulósicos y fenólicos. (3)

2938 cm^{-1} : Región generada por una vibración de tensión asimétrica de C-H saturado, mostrando clara evidencia de estructuras alifáticas como CH_2 y CH_3 .

2896 y 2828 cm^{-1} : Vibración de tensión simétrica de C-H saturado de estructuras alifáticas CH_2 . Nuevamente se puede atribuir a la presencia de grupos alifáticos en la estructura.

Estudios realizados por Seunghun (52) sugieren que la resolución de estos picos en el espectro IR podría deberse a un enriquecimiento en el contenido de carbonos alifáticos.

1621 cm^{-1} : Tensión C=C de sistema aromático conjugado en diversas intensidades y/o estiramiento asimétrico de grupos carboxílicos ionizados. Estas bandas son características de estiramientos peptídico C=O (Amida I). Resultados similares son reportados por Seunghun (52)

1418 cm^{-1} : Banda atribuida a vibración asimétrica de C-H alifático, a deformaciones O-H y estiramiento C=O; lo cual puede ser atribuido posiblemente a grupos fenólicos o esteres. Como lo confirma Stevenson (6)

1089 cm^{-1} : Banda generada por estiramiento C-O de polisacáridos y grupos alcohólicos y también posiblemente para estiramientos de grupos Si-O y Al-OH de aluminosilicatos. Este pico es mucho más marcado para esta fracción, lo que podría indicar la presencia de una mayor cantidad de grupos Si-O y Al-OH. Bandas similares son reportadas por Piccolo and Stevenson, (1982), Rusell, (1987) y Nguyen, (1991).

691 cm^{-1} : banda asociada con -OH de aluminosilicatos.

549 cm^{-1} : banda asociada con enlaces Si-O-Al.

Los picos alrededor de 600 cm^{-1} son asociados con componentes minerales tales como óxidos o silicatos. Para las fracciones de humina estos picos son intensos por su alto contenido de minerales. (1), (3), Kang, (52)

Comparando los espectros IR para estas dos fracciones es posible ver que para el caso de la humina heredada las bandas presentes entre 400-800 cm^{-1} son menos marcadas y de menor intensidad que aquellas presentes en este mismo rango, para la fracción humina. Estas bandas están asociadas con la presencia de componentes minerales y el hecho que aparezcan con menor intensidad en el primer caso (Figura 22) podría demostrar que la humina heredada esta menos unida a la fracción mineral del suelo y por tanto es extraíble más fácilmente con solo la aplicación de ultrasonidos.

Para el caso de la fracción humina la presencia de bandas marcadas en esta región del espectro IR explicaría su insolubilidad ya que la unión de la materia orgánica con la fracción mineral sería más fuerte.

6.8.3.2 Espectros IR para las Fracciones de Humina Unida al Hierro y Humina de Insolubilización Extraíble.

En las Figuras No 24 y 25 se reportan los espectros IR para las fracciones de humina unida al hierro y humina de insolubilización extraíble y se analizan sus principales bandas.

Figura 24. Espectro IR para la Fracción Humina Unida al Hierro

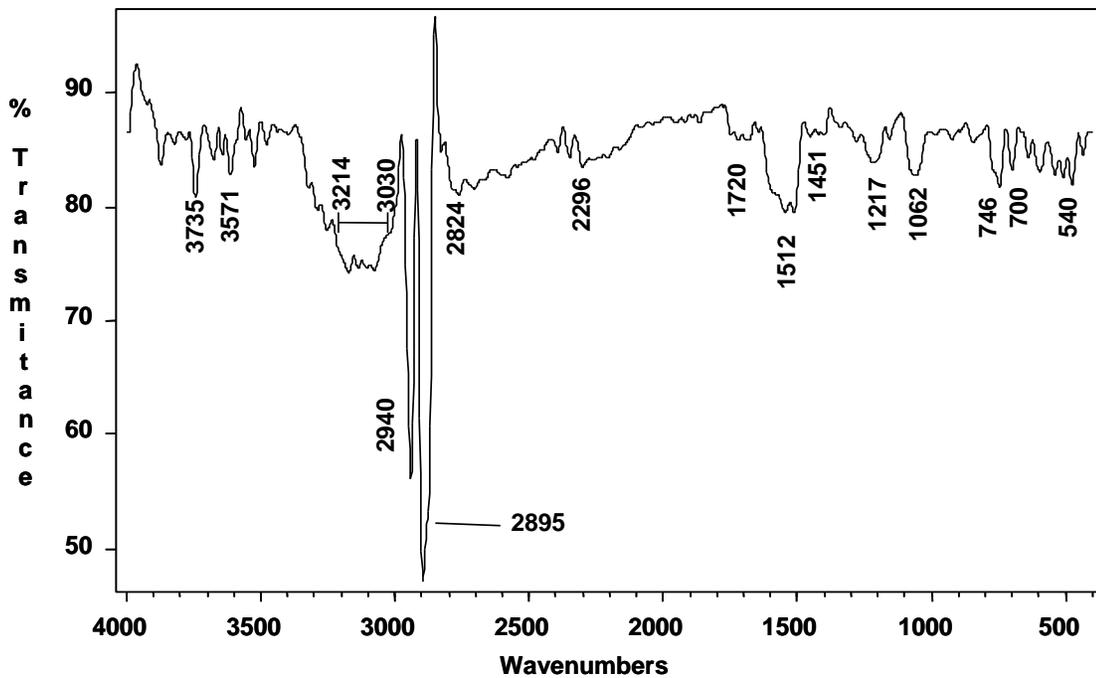
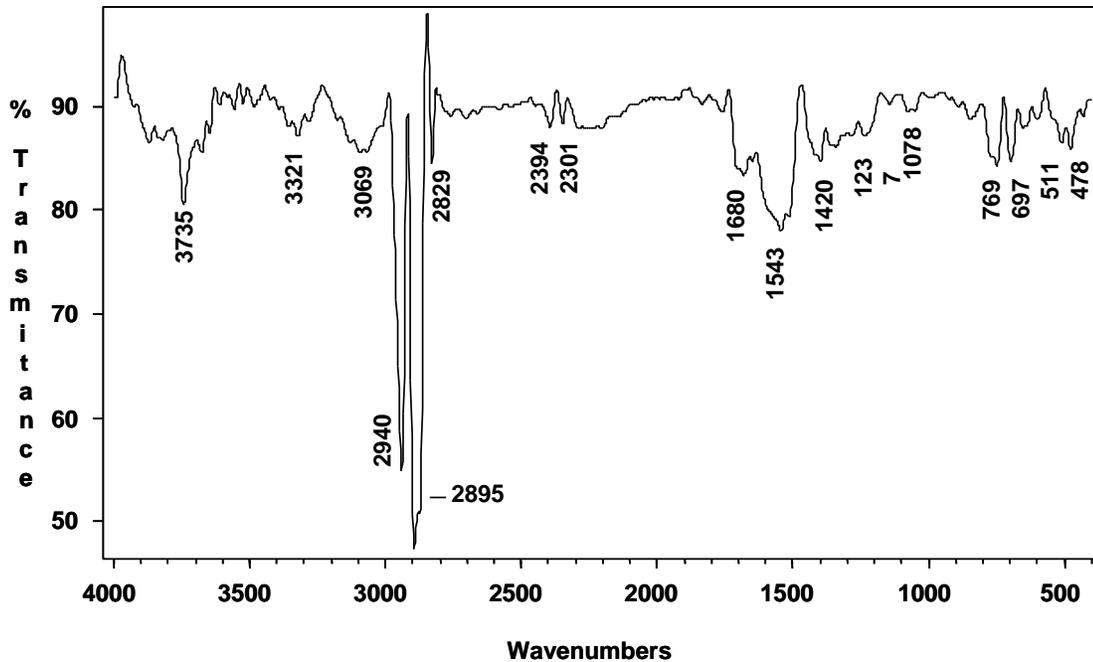


Figura 25. Espectro IR para la Fracción Humina de Insolubilización Extraíble.



Las principales bandas de absorción de los espectros IR para la humina unida al hierro y humina de insolubilización extraíble se presentan a continuación.

3735 cm^{-1} : Vibración simétrica de Al-OH.

3321 y 3069 cm^{-1} : Banda generada por vibración de tensión – COOH. Podría indicar la presencia de grupos funcionales – COOH en la estructura. Bandas similares se reportan en estudios realizados por McCarthy and Rice (1985); y por Candler et al. (1988)

2940 cm^{-1} : Región generada por una vibración de tensión asimétrica de $-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}$. Propio de la presencia de grupos alifáticos en la estructura.

2850-2866 cm^{-1} : Vibración de tensión simétrica de C-H saturado de estructuras alifáticas CH_2 . Propio de la presencia de grupos alifáticos en la estructura.

2895 cm^{-1} : Vibración de tensión simétrica de C-H saturado de estructuras alifáticas CH_2 . Nuevamente se puede atribuir a la presencia de grupos alifáticos en la estructura.

1720 cm^{-1} : Vibración generada por una tensión de grupo $\text{C}=\text{O}$ principalmente de $-\text{COOH}$. La intensidad de este pico de crece notoriamente a medida que avanza la extracción. Como lo demuestra Baes y Bloom (1989)

Presencia de Picos alrededor de 1500 cm^{-1} : corresponden a vibraciones de tensión $\text{C}=\text{C}$ de compuestos aromáticos o por la presencia de enlazamientos N-H, (Amidas II). Esto podría indicar la presencia de compuestos peptídicos.

1451 cm^{-1} : Vibraciones atribuidas a otros compuestos alifáticos C-H que generan deformación simétrica. Podrían indicar la presencia de grupos fenólicos, como lo reporta Stevenson (6)

1217 cm^{-1} : Vibración de tensión atribuida para grupos C-O, deformación OH de $-\text{COOH}$ y tensión C-O de aril éteres. Estudios realizados por Kiyoshi, (4) y Kang, (52) reportan valores similares.

1062 cm^{-1} : Banda generada por estiramiento C-O de polisacáridos y grupos alcohólicos y también posiblemente para estiramientos de grupos Si-O y Al-

OH de aluminosilicatos. Como lo demuestra Rusell, (1987); Nguyen, (1991), Piccolo y Stevenson, (1982)

700 cm^{-1} : bandas asociadas con $-\text{OH}$ de aluminosilicatos.

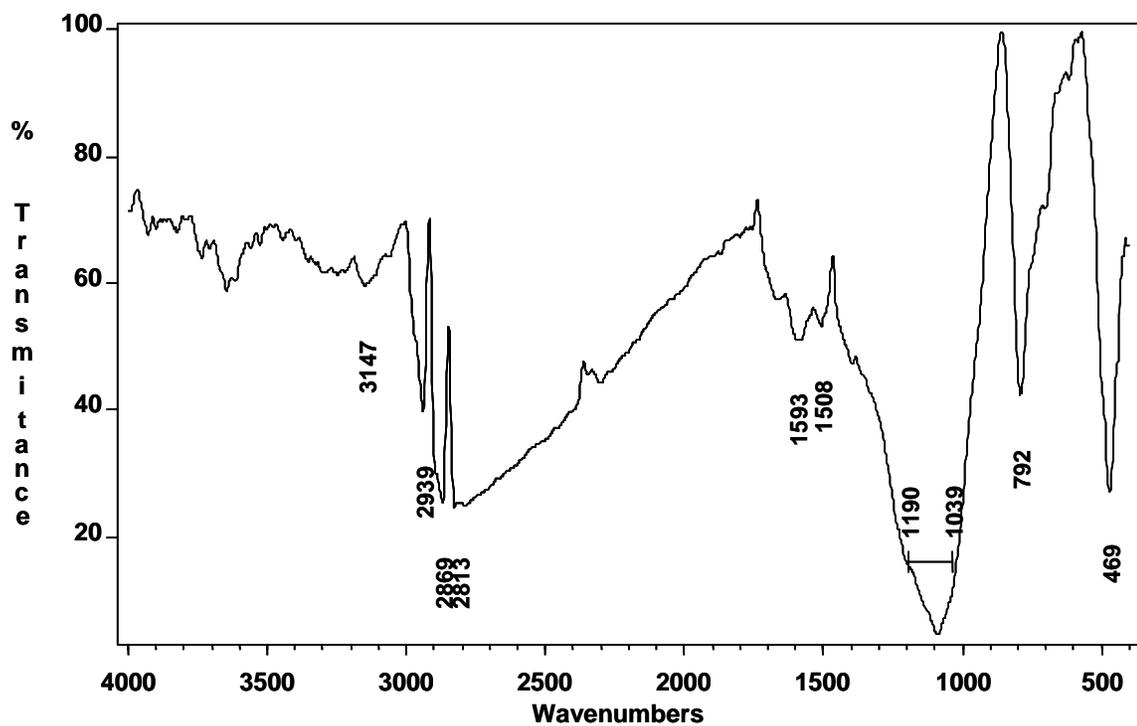
Los picos alrededor de 600 cm^{-1} son asociados con componentes minerales tales como óxidos o silicatos. Para las fracciones de humina estos picos son intensos por su alto contenido de minerales. Bandas similares son reportadas por Agnelli, (1); Fan, (3) y Kang, (52)

Observando los espectros IR de la humina unida al hierro y humina de insolubilización extraíble es posible ver una marcada disminución en la intensidad de los picos; a pesar que aparecen con valores muy similares a los mostrados en los espectros para humina heredada y humina total, su intensidad es mucho menor. Esto podría explicar la mayor solubilidad de estas fracciones al momento de realizar la extracción de los componentes de la humina, ya que estarían formadas por moléculas de menor complejidad estructural y unidas menos fuertemente a la fracción mineral, facilitando así su separación.

6.8.3.3 Espectros IR para la Fracción de Humina de Insolubilización No Extraíble.

En la Figura 26 se muestra el espectro IR para la humina de insolubilización no extraíble y se analizan sus principales bandas.

Figura 26. Espectro IR para la Fracción Humina de Insolubilización No Extraíble.



Las principales bandas de absorción de los espectros IR para la humina de insolubilización no extraíble se presentan a continuación.

3147 cm^{-1} : Banda muy pequeña generada por vibración de tensión – COOH.

2939 cm^{-1} : Región generada por una vibración de tensión asimétrica de – CH_2 y – CH. Propio de la presencia de grupos alifáticos en la estructura.

2869 cm^{-1} : Vibración de tensión simétrica de C-H saturado de estructuras alifáticas CH_2 . Propio de la presencia de grupos alifáticos en la estructura. Estudios similares se reportan por Pelekani (33) y Engebretson y Wandruszka (35)

2813 cm^{-1} : Banda generada por una vibración de enlace C-H del grupo carbonilo. Podría indicar la presencia de grupos aldehído en la estructura.

1039 y 1190 cm^{-1} : Banda generada por estiramiento C-O de polisacáridos y grupos alcohólicos y también posiblemente para estiramientos de grupos Si-O y Al-OH de aluminosilicatos. Este pico es mucho más marcado para esta fracción, lo que podría indicar la presencia de una mayor cantidad de grupos Si-O y Al-OH.

Banda a 792 cm^{-1} : Vibración de tensión de Si-O. Podría indicar una alta presencia de minerales arcillosos en la estructura debido a que se muestra como una banda muy marcada. Como lo reporta Stevenson, (6).

Banda a 469 cm^{-1} : Banda generada por la vibración de Si-O-Fe. Estas dos últimas bandas pueden ser asociadas con componentes minerales tales como óxidos o silicatos. Para las fracciones de humina estos picos son intensos por su alto contenido de minerales. Estudios realizados por Agnelli, (1); Fan, (3) y Kang, (52) presentan bandas similares.

En el caso de la humina de insolubilización no extraíble es posible observar una disminución drástica en las bandas presentes en espectro IR, mostrándose muy intensas las bandas asociadas con la presencia de minerales arcillosos tales como óxidos y aluminosilicatos. Esto explicaría la alta insolubilidad de esta fracción frente a cualquier reactivo ácido o básico ya que presentaría uniones muy fuertes con la fracción mineral del suelo que podrían impedir su extracción.

En este espectro también es posible observar que las bandas pertenecientes a vibraciones de grupos alifáticos se muestran muy marcadas lo cual indicaría que estos grupos hacen parte importante de esta fracción.

En general, en todos los espectros IR mostrados para las fracciones extraídas es posible observar vibraciones atribuidas a la presencia de grupos alifáticos, lo cual podría indicar que estos grupos forman parte importante dentro de la estructura de las fracciones de humina.

7. CONCLUSIONES

1. El suelo analizado presenta fuerte acidez, alta capacidad de intercambio catiónico, bajo nivel de aluminio y baja saturación del mismo que no implica toxicidad por parte de este elemento. La fuerte acidez puede atribuirse al alto contenido de materia orgánica generado por la baja actividad biológica del suelo. Contiene además bajas concentraciones de calcio, magnesio y potasio cuya deficiencia puede ser debida a la pérdida por lavado como lo evidencia el bajo valor de capacidad de intercambio efectiva. Presenta deficiencias apreciables de fósforo y micronutrientes.
2. Se logró implementar una metodología adecuada para la extracción y purificación de la fracción humina y además se logró la separación de las diferentes fracciones que la conforman. La eficiencia del proceso se evaluó mediante el análisis elemental, la relación E4/E6 y el análisis Infrarrojo de las fracciones de humina separadas con cada uno de los extractantes.
3. Tanto el método granulométrico como el densimétrico permiten la extracción de un porcentaje considerable de materia orgánica humificada, indicando su predominio en el suelo. Sin embargo el método granulométrico permite un mayor y mejor grado de separación de sustancias húmicas, pero los métodos de extracción no influyen en su purificación y caracterización.

4. El mayor porcentaje de carbono extraíble para las sustancias húmicas del suelo analizado, con metodologías granulométrica y densimétrica, se obtuvo para la extracción con Tetraborato de sodio, de tal manera que en la materia orgánica humificada predominan los enlaces electrostáticos de fácil rompimiento por intercambio iónico.
5. El componente humina de la materia orgánica de este suelo es mayor del 50%. Se obtuvieron cuatro fracciones de ésta, correspondiendo el 50.5% a humina heredada, alrededor del 1% a humina no extraíble y menos del 1% a huminas, unida al hierro y no extraíble. Todas estas fracciones presentan un bajo o ningún grado de aromaticidad, y presencia de grupos alifáticos como se demuestra en los espectros IR.
6. El alto valor de materia orgánica presente en la humina no extraíble indicaría una fuerte unión entre esta fracción y los minerales arcillosos, corroborada en el análisis elemental por el predominio de oxígeno y en el análisis IR por las bandas muy intensas asociadas con la presencia de minerales arcillosos tales como óxidos y aluminosilicatos. Mientras que la humina heredada presenta uniones más débiles con la fracción mineral demostrada por la presencia de bandas menos marcadas y de menor intensidad.
7. La fracción de humina unida al hierro presenta más bajo grado de condensación y menor complejidad estructural en su molécula que la humina extraíble, sin embargo sus grados de humificación son mejores que los valores obtenidos para los ácido húmicos propiamente dichos. Esto podría indicar que la estructura de la humina extraíble es mucho más compleja y podrían presentar mayor grado de condensación.

8. En las diferentes fracciones de humina extraídas predomina el carácter alifático con estructuras altamente ramificadas que contribuyen a su carácter hidrofóbico y les confieren la habilidad para retener compuestos no polares tales como la mayoría de los pesticidas aplicados en la región para el control de múltiples plagas. Implicando alta importancia en la protección del medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agnelli, A. et. al. Chemical And Spectroscopic Characterization of the Humic substances from sandstone-derived rock fragments. *Soil Science*. Vol. 165. No. 4. (Abril 2000), p. 314-327.
2. Malekani, K. et. al. The effect of sequential removal of organic matter on the surface morphology of humin. *Soil Science*. Vol. 162. No. 5. (Mayo 2000), p. 333-342.
3. Fan, W. M. T. et. al. Chemical characterization of a chelator-treated soil humate by solution-state multinuclear two-dimensional NMR with FTIR and pyrolysis-GCMS. *Environ. Sci. Technol.* No. 34.(2000), p. 1636-1646.
4. Kiyoshi, T. et. al. Characterization of humin-metal complexes in a buried volcanic ash soil profile and a peat soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* Vol. 38. No. 2. (1992), p. 297-306.
5. Duchaufour, P. Bioquímica del Suelo. En: *Manual de Edafología*. Ed. Toray-Masson, S.A. Barcelona. 1978. Pg. 124-160.
6. Stevenson, F.J. *Humus Chemistry: Genesis, composition, reactions*. John Wiley, New York. 1982.

7. Bravo, I. Giraldo, E. Garcés, P. Biotransformación de algunos residuos agroindustriales y evaluación del proceso de humificación. Suelos Ecuatoriales. Vol. 31. No. 2. (Dic. 2001).
8. Extraction of Soil Organic Matter. <http://www.ar.wroc.pl/-weber/def2.htm>
9. Lopez Ritas, J; Lopez Melida, J. El Diagnostico de Suelos y Plantas. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 1985. P. 23
10. Sociedad Internacional de las Ciencias del Suelo, Centro Internacional de Referencia e Información en Suelos, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. 1999.
11. El Suelo. <http://www.redagraria.com/investigacion/fca/publicaciones.htm>
12. Alcalá de Jesús, Maria; Ortiz Solorio, Carlos A. Et. Al. Clasificación de los Suelos de la Meseta Tarasca, Michoacán. Terra. Volumen 19. No. 3. 2001, p. 227-239. Jaramillo,
13. Daniel F.; Zapata, Raúl D.; Arias Luis Alberto. Los Suelos Derivados de los Materiales Piroclásticos de la Secuencia el Cedral en el Altiplano de San Félix (Salamina- Caldas). Revista del ICNE. 4(2): 1-13. 2001.
14. Celis, A. Y Letelier, E. Suelos. En: Estado del Medio Ambiente en Chile. Ministerio Secretaria General de la Presidencia, Ministerio del Medio Ambiente, Ministerio de Agricultura y Comisión Nacional Forestal. 117p.
15. Materia Orgánica. <http://edafologia.ugr.es/introeda/tema02/susthum.htm>

16. Varshovi, A. and Sartain, J. B. Chemical characteristics and microbial degradation of humate. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* Vol. 24. No. 17-18. (1993), 2493-2505.
17. A Collection of Standard Humic Substances.
<http://www.ihss.gatech.edu/history.htm>
18. MacCarthy, P. The principles of humic substances. *Soil Science.* Vol. 166 No. 11. (Nov. 2001), p. 738-751.
19. Rice, J.A, Kohl, S. The Binding of Organic Contaminants to humin. *Sci. Total Environ.* No. 81.(1989), p. 61-69.
20. Rice, A.J, et. al. Fractionation of pesticide residues bound to humin. *Soil Science.* Vol. 162 No. 6. (Jun. 1997), p. 424-429.
21. Rice, J.A., And Maccarthy, P. A model of humin. *Environ. Sci. Technol.* No. 24. (1990), p. 1875-1878.
22. Huminas.
http://www.infoagro.com/agricultura_ecologica/agricultura_ecologica15.asp
23. Velasco, F y Mingo de P. Distribución dela materia orgánica libre y ligada, y de las fracciones de humina en suelos climacicos y en suelos degradados. *Anales de Edafología y Agrobiología.* (Dic. 1981), p. 179-189.

24. Smeulders, D.E, Wilson, M.A, Et.al. Structure of Molecular Weight Fractions of Bayer Humic Substances. *Ind. Eng. Chem. Res.* No. 39, (2000), p. 3631- 3639.
25. Almendros, G. y Gonzales-Vila, F.J., Degradative studies on a soil humin fraction – sequential degradation of inherited humin. *Soil Biol. Biochem.* Vol.19. No. 5. (1987), p. 513-520.
26. Rice, James A. Humin. *Soil Science.* Vol. 166 No. 11. (Nov. 2001), p. 848-857.
27. Garavito Neira, F. *Propiedades Químicas de los Suelos. Volumen X.* No. 11. Instituto Geográfico “Agustín Codazzi”. Bogotá. 1979. Pg. 41-55.
28. Simpson, J.A. et.al. Separation of structural components in soil organic matter by diffusion ordered spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* Vol.35. No. 22. (2001), p. 4421-4425.
29. Muller, B. Margit. Et.al. Fractionation of natural organic matter by size exclusion chromatography properties and stability of fractions. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 34. No. 23. (2000), p. 4867-4872.
30. Dankwart, A. Hock, B, Et.al. Determination of non- extractable triazine residues by enzymes immunoassay: investigation of model compounds and soil fulvic and humic acids. *Environ. Sci. Technol.* No. 30. (1999), p. 3493 – 3500.

31. Andreux, Francis. Técnica de extracción y de caracterización de la materia orgánica del suelo. Instituto Geográfico "Agustín Codazzi". Bogota. Colombia.
32. Chiou, T. Cary. Sorption of selected organic compounds from water to a peat soil and its humic-acid and humin fractions: Potential sources of the sorption nonlinearity. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 34. No. 7. (2000), p. 1254-1258.
33. Costas Pelekani. Et.al. Characterization of natural organic matter using high performance size exclusion chromatography. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 33. No. 16. (1999), p. 2807-2813.
34. Mobed, J.J, Hemmingsen, L.S, Et.al. fluorescence characterization of humic substances: Total luminescence spectra with absorbance correction. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 30. No. 10. (1996), p. 3061-3065.
35. Engebretson, R.R And Wandruszka, V.R. Effects of humic acid purification on interactions with hydrophobic organic matter. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 33. No. 23. (1999), p. 4299-4303.
36. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Suelos de Colombia. Origen, evolución, clasificación, distribución y uso. Segunda edición. Santa Fe de Bogotá 1995. Pág. 551 – 565, 297 – 426.
37. Kumada, K. Chemistry of soil organic matter. Developments in soil science. Japan Scientific Societies Press. Japan. 1987.

38. Cegarra, J. Fraccionamiento de fertilizantes orgánicos y de sus productos de humificación. Centro de Edafología y Biología aplicada del Segura. Murcia, España. 1978.
39. Arango, G. Caracterización Química y Pedogenésis de suelos y Paleosuelos derivados de cenizas volcánicas en el norte de la cordillera Central Colombiana. Trabajo de grado. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 1993.
40. Dávila, J. Caracterización Preliminar de Ácidos Fúlvicos de Dos Suelos Colombianos (Andisol del Cauca y Oxisol del Amazonas). Trabajo de Grado. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. 2002.
41. Arango Gloria. Dinámica en el Compostaje de Residuos de Cultivos Florícolas. Laboratorio de Suelos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 2003
42. Cortes, Helen. Et al. Evaluación de Dos Metodologías para el Fraccionamiento de Huminas en un Oxisol del Amazonas. Laboratorio de suelos. Universidad nacional de Colombia e Instituto geografico Agustin Codazzi. 2001.
43. Chen, Y., Senesi N., and Schnitzer, M. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. Soil Sci. Soc. Americ. Journal. 41: 352-358. 1977.
44. Pérez, Solanlle., Ruiz Orlando., et al. Evidencias Estructurales de la Materia Orgánica (Maduración) en el Proceso de Compostaje. Grupo

Interdisciplinario de Estructuras Moleculares (GIEM). Universidad de Antioquia. 2001.

45. Rice, James., Humin. Soil Sci. Vol. 166, No. 11. November 2001. Pag. 848-855.
46. Orlando Ruiz Villadiego. Sustancias humicas e indices de Humificacion. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias, Escuela de Geociencias. 2001.
47. Schnitzer, M. Humic Substances: Chemistry and reaction. In Schnitzer, M., Khan S. Soil Organic Matter, Elseiver, Amsterdam. (1978) Pag. 1-58
48. Senesi, N., Miano, T.M., And Brunetti, G. Methods and related problems for sampling soil and sediment organic matter. Extraction, fractionation and purification of humic substances. Quimica Anlitica. (1996). Pag. S26-S33.
49. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Métodos Analíticos Del CALS. Santa fe de Bogota. 1997.
50. Zalba, P., Quiroga, A.R., Fulvic Acid Carbon as Diagnostic Feature for Agricultural Soil Evaluation. Soil Sci. Vol. 164. No. 1. 1999.
51. Negre, M., Preston, C.M. Analysis of humic acids by solution and solid-state Carbon-13 nuclar magnetic resonance. Soil Sci. Soc. Am. J. 50:316-331. 2002.

52. Seunghun Kang. Et al. Characterization of ten sequentially extracted humic acids and humin from a soil in western massachusetts. Soil Sci. Dic. 2003. Vol. 168. No. 12. 880-886.