



c i d e t e q

CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO TECNOLÓGICO
EN ELECTROQUÍMICA, S.C.

EVALUACIÓN DE PROPIEDADES SIRFACTANTES DE LOS
ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS EN COMPOSTAS/
VERMICOMPOSTAS Y SU APLICACIÓN EN PROCESOS DE
LAVADO DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS
POLIAROMÁTICOS

Tesis

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

*Doctor en Ciencia y Tecnología
en la Especialidad de Ingeniería Ambiental*

PRESENTA

Víctor Ángel Ramírez Coutiño



Santiago de Querétaro, Qro., México. 19 Junio del 2013.



Dr. Luis Gerardo Arriaga Hurtado


Subdirector de Posgrado


PICYT – CIDETEQ

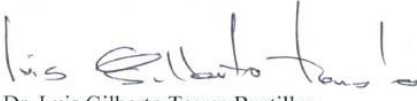
Querétaro

Los abajo firmantes, miembros del Jurado del Examen de Grado del alumno VÍCTOR ÁNGEL RAMÍREZ COUTIÑO, una vez leída y revisada la Tesis titulada "EVALUACIÓN DE PROPIEDADES SURFACTANTES DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTAS NERMICOMPOSTAS Y SU APLICACIÓN EN PROCESOS DE LAVADO DE SUELO CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS POLIAROMÁTICOS", aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por el alumno para aspirar al grado de Doctor en Ciencia y Tecnología en la opción terminal de INGENIERIA AMBIENTAL durante el Examen de Grado correspondiente.

Y para que así conste firmo la presente el 30 del mes de Mayo del año dos mil trece


Dr. Ricardo Jaime Guerra Sánchez
Presidente


Dr. Luis Arturo Godínez Mora-Tovar
Vocal


Dr. Luis Gilberto Torres Bustillos
Secretario


Dra. Erika Bustos Bustos
Vocal


Dr. Francisco Javier Rodríguez Valadez
Vocal



El siguiente trabajo fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S.C. bajo la dirección de

Dr. Francisco Javier Rodríguez Valadez

AGRADECIMIENTOS

A dios, por otorgarme la paciencia y la perseverancia necesaria para poder culminar esta etapa de mi vida de la cual he aprendido que puedo lograr todo lo que me proponga.

A mis tesoros más preciados, Yeli, Irlandita y a mi más reciente traviesa e incansable Giuli, porque ellas son mi motivación para realizar cosas que jamás hubiera pensado que podía hacer, por soportar los momentos de mi ausencia y dejar de disfrutar tiempo en familia y mucho más, las amo con toda mi existencia.

A mis padres, que fueron y seguirán siendo mi soporte y mi guía, por los consejos tan acertados y por la paciencia que han tenido para conmigo.

A mi hermano, porque él fue el participante principal de toda esta aventura, desde la realización de la Maestría hasta el Doctorado.

A mis abuelos que en paz descansen, los cuales estuvieron y estarán siempre a mi lado.

A mis compadres, Karen y Carlos a quienes estimo mucho, gracias por su amistad y apoyo incondicional, ya son parte de mi familia.

A mi asesor el Dr. Francisco J. Rodríguez Valadez, con el cual he transitado este camino desde mis inicios a la investigación, gracias por todo su apoyo y espero y sigamos colaborando juntos.

A mis sinodales la Dra. Ericka Bustos, Dr. Luis Godínez, Dr. Ricardo Guerra y Dr. Luis Torres por su tiempo y las buenas observaciones que hicieron de esta tesis un mejor trabajo de investigación.

Un agradecimiento especial a la Dra. Ángeles Cuan, por su apoyo en la culminación de esta tesis.

Al CONACYT por la beca otorgada sin la cual no hubiera sido posible la realización de mis estudios de posgrado.

Al CIDETEQ por haberme facilitado sus instalaciones para llevar a cabo mis estudios e investigación.

Al CONCYTEQ por el apoyo económico que me dieron para asistir a los diferentes foros de investigación de carácter nacional, los cuales me hicieron crecer en mi formación como investigador.

ÍNDICE

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1.1	El suelo: Recurso natural de la tierra.....	3
1.1.1	Propiedades fisicoquímicas del suelo.....	3
1.1.1.1	Textura.....	3
1.1.1.2	Heterogeneidad.....	3
1.1.1.3	Permeabilidad.....	3
1.1.1.4	PH.....	4
1.1.1.5	Humedad.....	4
1.1.1.6	Estructura.....	4
1.1.1.7	Capacidad de intercambio catiónico.....	5
1.2	Contaminación del suelo.....	5
1.2.1	Hidrocarburos: Principales contaminantes de suelos.....	7
1.2.1.1	Composición y características de hidrocarburos.....	10

CAPITULO II

DEFINICIÓN DEL PROYECTO

CAPITULO III

JUSTIFICACIÓN

CAPITULO IV

OBJETIVOS

1.2.1.2	Objetivo general.....	17
1.2.1.3	Objetivos específicos.....	17

CAPITULO V

FUNDAMENTO

5.1	Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos.....	18
5.1.1	Técnicas de remediación para suelo contaminado.....	18
5.1.2	Estrategia de remediación.....	19
5.1.3	Lugar de realización del proceso de remediación.....	19
5.1.4	Tipo de tratamiento.....	20
5.1.4.1	Tratamientos biológicos (biorremediación).....	20
5.1.4.2	Tratamientos fisicoquímicos.....	21

5.1.4.3	Tratamientos térmicos.....	22
5.1.4.4	Comparativo de los tratamientos biológicos, fisicoquímicos y térmicos.....	23
5.1.5	Lavado de suelo contaminado con hidrocarburos.....	24
5.2	Surfactantes.....	26
5.2.1	Concentración micelar crítica (CMC).....	28
5.2.2	Clasificación de surfactantes.....	31
5.2.2.1	Surfactantes aniónicos.....	32
5.2.2.2	Surfactantes Catiónicos.....	32
5.2.2.3	Surfactantes no iónicos.....	33
5.2.2.4	Surfactantes anfóteros.....	33
5.2.3	Uso de surfactantes en proceso de tratamiento de suelo.....	34
5.3	Biosurfactantes.....	35
5.4	Sustancias húmicas.....	36
5.4.1	Formación de las sustancias húmicas.....	39
5.4.2	Métodos de extracción de sustancias húmicas.....	43
5.4.2.1	Extracción alcalina.....	44
5.4.2.2	Extractantes suaves.....	45
5.4.2.3	NI $4P_2O_7$ y otras sales neutras.....	45
5.4.3	Propiedades y características estructurales de sustancias húmicas.....	46
5.4.3.2	Micelas húmicas.....	50
5.4.3.2	Pseudomicelas.....	52
5.4.3.3	La influencia de los iones metálicos.....	55
5.4.3.4	Efecto del PH.....	56
5.4.4	Usos y aplicaciones de ácidos húmicos.....	57

CAPITULO VI

DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1 Ácidos húmicos (AH) estudiados.....	60
6.2 Metodología de extracción para ácidos húmicos.....	61
6.3 Caracterización de ácidos húmicos.....	62
6.3.1 Espectroscopia FT-IR.....	62
6.3.2 Titulaciones ácido-base (grupos funcionales COOH y OH fenólicos).....	63
6.3.3 Análisis UV-Vis (E4/E6).....	65
6.4 Metodología para el estudio de los cambios en las tensiones superficiales de soluciones acuosas de ácidos húmicos a diferentes condiciones.....	65
6.4.1 Concentración pseudomicelar crítica de ácidos húmicos	66
6.4.2 Determinación de tensiones superficiales a diferentes condiciones de PH.....	66
6.4.3 Identificación de cambios en las tensiones superficiales con la adición de Ca ²⁺ +Fe ³⁺	67
6.5 Rearreglos moleculares de ácidos húmicos en soluciones Estudiados por cromatografía de exclusión molecular.....	67
6.5.1 Rearreglos moleculares de ácidos húmicos en solución con cambios en el PH.....	68
6.5.2 Rearreglos moleculares de ácidos húmicos con adición de cationes.....	68
6.6 Modelación de molécula húmica.....	69
6.7 Lavado de suelo contaminado mediante soluciones de ácidos húmicos a diferentes concentraciones.....	73
6.6.1 Lavado de suelo contaminado con naftaleno, antraceno y pireno mediante soluciones de ácidos húmicos a diferentes concentraciones.....	73

CAPITULO VII

RESULTADOS Y DISCUSION

7.1 Obtención de las muestras de ácidos húmicos.....	76
7.2 Grupos funcionales mediante espectroscopia de FT-IR.....	78
7.3 Titulaciones de ácido-base.....	79
7.4 Cuantificación de acidez total y grupos funcionales (COOH-OH).....	81
7.5 Relaciones espectro métricas.....	84
7.6 Determinación de la concentración pseudomicelar crítica de ácidos húmicos.....	86
7.7 Tensión superficial de soluciones de ácidos húmicos como una función del PH.....	88
7.8 Tensión superficial de ácidos húmicos en presencia de cationes (Ca ²⁺ +Fe).....	94
7.9 Estructura supramolecular de los ácidos húmicos en diferentes condiciones de PH.....	94
7.10 Efectos de la adición de cationes (Fe ³⁺) sobre la estructura supramolecular de ácido húmicos.....	100
7.11 Simulación molecular de los ácidos húmicos.....	104
7.12 Pruebas de lado de suelo.....	119

CAPITULO VIII

CONCLUSIONES

CAPITULO IX

PERSEPECTIVAS

CAPITULO X

REFERENCIAS

INDICE DE TABLAS

CAPITULO V

FUNDAMENTOS

Tabla 5.1 Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación in situ y ex situ (INE, 2007).....	20
Tabla 5.2 Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación, clasificadas de acuerdo al tipo de tratamiento.....	23
Tabla 5.3 Ventajas y desventajas del tratamiento de lavado del suelo.....	26
Tabla 5.4 Extractantes para los constituyentes orgánicos del suelo (Stevenson, 1994).....	44
Tabla 5.5 Intervalos usuales para la composición elemental de las Sustancias húmicas (Steelink 1985).....	47
Tabla 5.6 Grupos funcionales oxigenados en sustancias húmicas.....	48
Tabla 5.7 Distribución de grupos funcionales oxigenados en sustancias húmicas (meq 100) (Stevenson 1994).....	49

CAPITULO VI

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Tabla 6.1 Especificaciones cromatográficas para separación por tamaño molecular de ácidos húmicos.....	68
Tabla 6.2 Fragmento del cálculo vibracional y de termoquímica con el programa Gaussian.....	69
Tabla 6.3 Especificaciones cromatográficas para detección de poliaromáticos en lavado de suelo.....	75

CAPITULO VII

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 7.1 Proceso de extracción de ácidos húmicos.....	77
Figura 7.2 Muestras de ácidos húmicos obtenidos a partir de las compostas de lodos de planta de tratamiento y de la muestra de vermi composta AHCOMPI (Composta de lodo-pasto-maleza); AHCOMP2 (Composta de lodo-pasto-tezontle) ; AHVCOMP (Humus de vermi composta).....	77
Figura 7.3 FT-IR de ácidos húmicos HAVCOMP (Humus de vermi composta); HACOMPI (Composta de lodo-pasto-tezontle) y de diferentes orígenes de suelo por Stevenson, 1994.....	79
Figura 7.3 Titulaciones potencio métricas de ácidos húmicos.....	74
Figura 7.4 Curvas de titulación potencio métrica de ácidos húmicos.....	80
Figura 7.5 Curvas de titulación para calcular contenido de acidez total.....	81
Figura 7.6 Curvas de titulación para calcular la acidez por grupos carboxílicos en ácidos húmicos.....	82
Figura 7.7 Tensión superficial de ácidos húmicos y SDS en función de su concentración.....	86
Figura 7.8 Determinación de la concentración pseudomicelar crítica del AHCOMP1.....	87
Figura 7.9 Tensión superficial de ácidos húmicos como una función del PH.....	90
Figura 7.10 Tensión superficial de ácidos húmicos como función de la concentración de ea_2+Fe_3	92
Figura 7.11 Arreglos de la molécula de AH en presencia de cationes.....	94
Figura 7.12 Cromatogramas de soluciones de ácidos húmicos AHCOMPI a medios de PH 7 y PH 4.....	95

Figura 7.13 a) Molécula tomada como referencia (Wandruzka, 2000), b) Molécula totalmente protonada PH ácido, AH-AIIProt en e) Molécula deprotonada en los carboxilos y protonada en el grupo amino PH = 7.0 AH-NH3 y en d) Molécula deprotonada en los carboxilos y en el grupo amino PH=7.0 ah-coo.....	106
Figura 7.14 Estructura geométrica óptima para la molécula representativa del ácido, nombrada como AH,AlIProt Átomos de Carbono, C están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul Ji = 4.81 Debyes.....	107
Figura 7.15 Espectro teórico calculado de IR para la especie AH-AIIProt.....	108
Figura 7.16 Diagrama esquematizado de la iso superficie para la densidad electrónica en la especie AH-AIIProt, Valor de la iso superficie 0.0004. En b) se presenta la misma distribución solo que la iso superficie es traslucida para ver la distribución atómica al interior de la iso superficie.....	108
Figura 7.17 Diagrama esquemático de la iso superficie orbital para la especie AH-AIIProt. En la figura se muestra a la distribución HOMO y LUMO. Átomos de Carbono, C, están coloreados en gris, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. Valor de la iso superficie 0.02.....	109
Figura 7.18 Estructura geométrica óptima para la molécula representativa del ácido húmico, nombrada como AH-NH3. Átomos de Carbono, C, están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. J1 = 29.84 Debyes.....	110
Figura 7.19 Espectro teórico calculado de IR para la especie AH-NH3.....	111

Figura 7.20 Diagrama esquemático de la iso superficie para la densidad electrónica para la especie AH-NH ₃ . Valor de la iso superficie 0.0004. En b) se presenta la misma distribución, solo que la iso superficie es traslucida para ver la distribución atómica al interior de la iso superficie.....	111
Figura 7.21 Diagrama esquemático de la iso superficie orbital para la especie AH-NH ₃ . En la figura se muestra la distribución HOMO y LUMO. Átomos de carbono, C están coloreados en gris, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno azul. Valor de la iso superficie 0.02.....	112
Figura 7.22 Estructura geométrica óptima para la molécula representativa del ácido húmico, nombrada como AH-COO. Átomos de Carbono C están coloreados en café, átomos de oxígeno en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul J1= 13.66 Deybes.....	113
Figura 7.23 Espectro teórico calculado de IR para la especie AH-COO.....	114
Figura 7.24 Diagrama esquemático de la iso superficie para la densidad electrónica para la especie AH-COO. Valor de la iso superficie 0.0004. En b) se presenta la misma distribución, solo que la iso superficie es traslucida para ver la distribución atómica al interior de la iso superficie.....	115
Figura 7.25 Diagrama esquemático de la iso superficie orbital para la especie AH-COO. En la figura se muestra a la distribución ROMO y LUMO. Átomos de Carbono, C, están coloreados en gris, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. Valor de la iso superficie 0.02.....	116

Figura 7.26 Modelos propuestos para el ácido húmico, en donde se compara el volumen ocupado para cada especie propuesta. Átomos de Carbono C, están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul.....	118
Figura 7.27 Lavado de suelo contaminado con naftaleno mediante diferentes concentraciones y medios de PH de ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).....	120
Figura 7.28 Lavado de suelo contaminado con antraceno mediante diferentes concentraciones y medios de PH de ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).....	121
Figura 7.28 Lavado de suelo contaminado con antraceno mediante diferentes concentraciones y medios de PH de ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).....	121
Figura 7.29 Lavado de suelo contaminado con piren o mediante diferentes concentraciones y medios de PH ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).....	122

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1.1 El suelo: Recurso natural de la tierra

El suelo, la capa más superficial de la corteza terrestre, constituye uno de los recursos naturales más importantes con el que contamos al ser el substrato que sustenta la vida en el planeta. Desde el punto de vista edáfico, un suelo es un cuerpo natural tridimensional formado por la progresiva alteración física y química de un material original o roca madre a lo largo del tiempo, bajo unas condiciones climáticas y topográficas determinadas y sometido a la actividad de organismos vivos (Cotler et al., 2007). A lo largo de su evolución o edafogénesis, en el suelo se van diferenciando capas verticales de material generalmente no consolidado llamados horizontes, formados por constituyentes minerales y orgánicos, agua y gases, la composición volumétrica aproximada es de 45, 5, 25 y 25%, respectivamente, estos son caracterizados por propiedades físicas (estructura, textura, porosidad, capacidad de retención de agua, densidad aparente), químicas y físico-químicas (pH, potencial redox, capacidad de intercambio catiónico) que los diferencian entre sí y del material original (Juarez, 2005).

Los constituyentes minerales (inorgánicos) de los suelos normalmente están compuestos de pequeños fragmentos de roca y minerales de varias clases. La materia orgánica del suelo representa la acumulación de las plantas destruidas y resintetizadas parcialmente y de los residuos animales. Uno de los componentes orgánicos de los suelos es el humus (sustancias húmicas). El humus se encuentra en las capas superiores de los suelos y constituye el producto final de la descomposición de los restos de plantas y animales, junto con algunos minerales; tiene un color de amarillento a negro, y confiere un alto grado de fertilidad a los suelos (Foth, 1990).

El conjunto de horizontes constituye el perfil del suelo y su estudio permite dilucidar los procesos de formación sufridos durante su evolución y llevar a cabo su clasificación dentro de las distintas unidades de suelos.

La importancia del suelo radica en que es un elemento natural dinámico que constituye la interfaz entre la atmósfera, la litosfera, la biosfera y la hidrosfera, sistemas con los que mantiene un continuo intercambio de materia y energía (Cotler et al., 2007). Esto lo convierte en una pieza clave del desarrollo de los ciclos biogeoquímicos y le confiere la capacidad para desarrollar una serie de funciones esenciales en la naturaleza de carácter medioambiental, ecológico, económico, social y cultural, como:

- Proporcionar los nutrientes, el agua y el soporte físico necesarios para el crecimiento vegetal y la producción de biomasa en general, desempeñando un papel fundamental como fuente de alimentación para los seres vivos.
- Es un componente esencial del ciclo hidrológico, actuando como elemento distribuidor de las aguas superficiales y contribuyendo al almacenaje y recarga de las aguas subterráneas.
- A través de su poder de amortiguación o desactivación natural de la contaminación, filtra, almacena, degrada, neutraliza e inmoviliza sustancias orgánicas e inorgánicas tóxicas, impidiendo que alcancen las aguas subterráneas y el aire o que entren en la cadena alimenticia.
- Es el hábitat natural biológico de muchos organismos de todo tipo y constituye un elemento de reserva genética.
- Desarrolla un importante papel como fuente de materias primas.
- Sirve de plataforma para el desarrollo de las actividades humanas como soporte de la estructura socioeconómica y forma parte del paisaje y del patrimonio cultural.

El suelo es un elemento frágil del medio ambiente, un recurso natural no renovable puesto que su velocidad de formación y regeneración es muy lenta mientras que los procesos que contribuyen a su degradación, deterioro y destrucción son mucho más rápidos. Por ello, es de suma importancia hacer conciencia sobre este aspecto y establecer medidas ambientales y políticas de actuación que garanticen la protección y conservación de los suelos (Volke y Velasco , 2002)

1.1.1 Propiedades fisicoquímicas del suelo

Entre las propiedades fisicoquímicas de los suelos se encuentran: La textura, estructura, humedad, pH, y capacidad de intercambio iónico (McBride, 1994).

Las propiedades físicas de los suelos dependen de la composición mineralógica de la forma y del tamaño de las partículas que lo forman y del ambiente que los rodea. El tamaño, la forma y la composición química de las partículas determinan la permeabilidad, la capilaridad, la tenacidad, la cohesión y otras propiedades resultantes de la combinación de todos los integrantes del suelo (Lambe y Whitman, 2008).

1.1.1.1 Textura

La textura indica el contenido relativo en el suelo de partículas de diferente tamaño, como la arena, el limo y la arcilla utilizándose una combinación de estos nombres para indicar los grados intermedios (Juárez, 2005). Esta propiedad ayuda a determinar la facilidad de abastecimiento de los nutrientes, agua y aire que son fundamentales para la vida de las plantas.

1.1.1.2 Heterogeneidad

Es prácticamente imposible obtener un suelo que sea homogéneo o uniforme, puesto que todos los suelos presentan, en mayor o menor grado, heterogeneidad derivada de sus diferentes características físicas, químicas y biológicas, unas ligadas a los procesos de formación del suelo y otras derivadas del manejo y de las prácticas agronómicas recibidas. Un suelo demasiado heterogéneo puede impedir el uso de tecnologías in situ que dependan del flujo de un fluido. La heterogeneidad del suelo puede crear canales indeseables de fluidos en los horizontes arenosos y arcillosos, dando como resultado tratamientos ineficientes.

1.1.1.3 Permeabilidad

La permeabilidad es la propiedad que tiene el suelo de conducir el agua y el aire. Mientras más permeable sea el suelo, mayor será la filtración. El tamaño de los poros del suelo reviste gran importancia con respecto a la tasa de filtración (movimiento del agua hacia dentro del suelo) y a la tasa de percolación (movimiento del agua a través del suelo). El tamaño y el número de los poros guardan estrecha relación con la textura y la estructura del suelo al igual que también influyen en su permeabilidad. La permeabilidad de un suelo es uno de los factores que controla la efectividad de tecnologías in situ. En general, una baja permeabilidad en el suelo disminuye la efectividad de la mayoría de las tecnologías de remediación (Guínes, 2003).

1.1.1.4 PH

El pH del suelo aporta una información de suma importancia en diversos ámbitos de la edafología. Uno de la más importante deriva del hecho de que las plantas tan solo pueden absorber los minerales disueltos en el agua, mientras que la variación del pH modifica el grado de solubilidad de los minerales. El pH por otro lado, determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y formas iónicas de un contaminante y otros constituyentes del suelo. La solubilidad de muchos contaminantes inorgánicos cambia en función del pH y normalmente su movilidad disminuye con altos valores de pH (FAO, 2012).

1.1.1.5 Humedad

La humedad de suelo se define como la cantidad de agua por volumen de tierra que hay en un terreno. Es un factor importante para la elección de una tecnología con respecto a la remediación de suelo. Una alta humedad puede impedir el movimiento de aire a través del suelo, lo que afecta los procesos de remediación, así como provocar problemas durante la excavación y transporte, además de aumentar costos durante el uso de métodos de remediación térmicos (Volke y Velazco, 2002).

1.1.1.6 Estructura

La estructura del suelo se define por la forma en que se agrupan las partículas individuales de arena, limo y arcilla. Cuando las partículas individuales se agrupan, toman el aspecto de partículas mayores y se denominan agregados.

De acuerdo a esta característica se distinguen suelos de estructura esferoidal (agregados redondeados), laminar (agregados en láminas), prismática (en forma de prisma), viscosa (en bloques) y granular (en granos).

1.1.1.7 Capacidad de intercambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es la capacidad que tiene un suelo para retener y liberar iones positivos, merced a su contenido en arcillas y materia orgánica, se expresa en miliequivalentes por 100 g de suelo. Las arcillas están cargadas negativamente, por lo que suelos con mayores concentraciones de arcillas, exhiben capacidades de intercambio catiónico mayores. A mayor contenido de materia orgánica en un suelo aumenta su CIC. La carga negativa deriva de la disociación de los grupos funcionales variando en magnitud de acuerdo al pH, no es por lo tanto una carga permanente sino variable. A pH bajos los hidrogeniones están fuertemente retenidos en las superficies de las partículas, pero a pH altos los W de los grupos carboxílicos primero y fenólicos después, se disocian y pueden ser intercambiados por cationes.

Esto es la consecuencia de que la capacidad de intercambio catiónico aumente con el pH, por otro lado, la CIC es una medida de un material (coloide) para retener cationes intercambiables (Casanova, 2006).

1.2 Contaminación del suelo

En el planeta ocurren una serie de flujos tanto energéticos como de materia, igual que en un proceso industrial, donde se distinguen flujos de entrada, de salida, y desechos. El suelo actúa como receptor de todos esos flujos, convirtiéndose en una especie de fuente de materiales y de vertedero, como también de reciclaje; ya que las materias primas provienen del suelo, los desechos van al suelo, y se degradan naturalmente también ahí. Sin embargo, estas capacidades del suelo son finitas, y en la actualidad están siendo sobreexplotadas por el ser humano.

El manejo inadecuado de los materiales y residuos peligrosos actualmente han provocado en el mundo un grave problema de contaminación de los suelos.

Se entiende como suelo contaminado, según muchos organismos internacionales, aquel que represente una amenaza para la salud humana y el medio ambiente, debido a las sustancias presentes en o bajo el suelo, generalmente ocasionado por un mal uso. Además, se puede decir que un sitio contaminado según Moraga (2003) es "aquel con presencia de componentes que no son atribuibles a la condición natural del sitio".

La introducción de contaminantes o material exógeno al suelo puede traducirse en un daño o pérdida de algunas o varias de las funciones antes mencionadas, repercutiendo directamente en la calidad del suelo y su función. Además, no solo perjudica al suelo, sino también puede tener implicaciones en aguas superficiales y subterráneas al ser lixiviados los contaminantes ya sea por medio de lluvias o simple infiltración. La presencia de contaminantes en suelo a cierta concentración implica múltiples consecuencias negativas para la cadena alimenticia y por lo tanto para la salud humana (Hillel et al., 2004).

La problemática de contaminación de suelo comenzó a fines del siglo XIX, con la revolución industrial, pues una de las principales fuentes de contaminación fueron las instalaciones industriales tanto en operación como después de su cierre, las que causaron derrames y filtraciones, tanto por accidentes o debido al mal manejo de las operaciones. Se pueden relacionar algunas actividades industriales con los contaminantes comúnmente encontrados en sus instalaciones, entre ellas se puede mencionar la asociación de industrias como la producción de gas desde carbón, manufactura de cueros y pieles, estaciones de servicio y refinerías de petróleo, entre otras, a la presencia de hidrocarburos como contaminantes (Cisneros, 2001).

La problemática de suelos contaminados ha sufrido mayor crecimiento en los últimos años en comparación con otras áreas de los estudios ambientales, debido principalmente a que el suelo había sido considerado por años como un recurso renovable, sin embargo, a medida que pasan los años se ha revertido este pensamiento, y hoy se considera al suelo como un recurso no renovable, debido principalmente a que presenta una rápida degradación y también una lenta regeneración. Sí antiguamente se creía que depositar contaminantes o basura en el suelo era la solución para los desechos, hoy se sabe que los únicos perjudicados al realizar estas acciones son los propios seres humanos. Los sólidos que se abandonan ambientalmente siguen reaccionando, ya sea de forma física, química o biológica, que finalmente lleva a la generación de compuestos en fase acuosa que impactan el suelo donde se han dispuesto (EPA, 2009).

En México la intensa actividad de las industrias, junto con los accidentes ocurridos durante el almacenamiento, transporte o trasvase de sustancias (fugas, derrames, incendios) y la disposición clandestina e incontrolada de residuos, contribuyen en gran medida a la contaminación de suelos (SEMARNAT, 1996). El número de sitios contaminados asciende a varios miles de lugares cuyo riesgo potencial es desconocido. De acuerdo con datos publicados por el INEGI (2000), la superficie de suelo degradado por causas de contaminación en 1999 fue de 25,967 km². Información estadística de la procuraduría federal de protección al ambiente (PROFEPA, 1999), estima que cada año se presentan en México un promedio de 550 emergencias ambientales relacionadas al suelo con materiales y residuos peligrosos. Debido a la gran cantidad de suelos contaminados con materiales peligrosos, así como a la falta de instalaciones para el tratamiento adecuado y disposición final de éstos, las grandes empresas paraestatales mexicanas: Petróleos Mexicanos (PEMEX), Ferrocarriles (FFCC) y la Comisión Federal de Electricidad (CFE), entre otras empresas del ramo energético y del transporte, enfrentarán en el futuro cercano dificultades legales una vez que las respectivas normas oficiales mexicanas relacionadas con la remediación de suelos contaminados que todavía están en elaboración, sean ejecutadas por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

1.2.1 Hidrocarburos: Principales contaminantes de suelos

Dentro de los compuestos peligrosos más comúnmente involucrados en emergencias ambientales se encuentran los hidrocarburos del petróleo y sus derivados (gasolinas, combustóleo, diésel).

Los hidrocarburos derivados del petróleo, sin lugar a duda constituyen un elemento clave para las actividades humanas, así como materia prima para la producción de diversos compuestos y son la principal fuente de energía con la que cuenta la humanidad, pero el uso de los mismos los convierte en un importante contaminante medioambiental. A lo largo del siglo XX, se ha registrado en casi todo el mundo, un incremento vertiginoso en la cantidad de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo y sus derivados.

Entre las más severas contaminaciones destacan las que se produjeron y todavía se producen a causa de la extracción y el manejo del petróleo en todos los países productores de hidrocarburos en América Latina; principalmente en Venezuela, Brasil, México, Argentina, y Ecuador. Dichas contaminaciones del suelo han provocado un deterioro creciente de las fuentes de abastecimiento de agua potable, ya sea superficial o subterránea.

Dos de los grandes problemas que la industria petrolera enfrenta son, por un lado, la contaminación que ella misma produce y por el otro, la baja eficiencia en la extracción del petróleo de sus reservorios naturales.

La industria del petróleo en México, ha tenido un impacto negativo en materia ambiental. Como consecuencia de varias décadas de actividad de la industria química básica, petroquímica y de refinación del petróleo en México, se han producido cantidades grandes de residuos peligrosos (INE, 2007).

México por ser un país productor de petróleo, gran parte de las actividades industriales que se realizan están orientadas a la exploración, explotación, almacenamiento y transporte de hidrocarburos. Lo anterior aumenta la posibilidad de derrames en zonas industriales y rutas de transportación. Estadísticas de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente obtenidas en 1997 establecen que el mayor porcentaje de productos que se derraman y provocan afectación al suelo es de hidrocarburo, en el siguiente orden: petróleo crudo, gasolina, diésel, combustóleo y tolueno (Mcmillen, 2001).

Los problemas de contaminación más conocidos son aquellos que ocurren en superficie y cuando la presencia de contaminantes es evidente a simple vista, por su aspecto. Casos típicos son los derrames del petróleo crudo en zonas de exploración y explotación, tanto en tierra como en mar.

Muchos otros problemas que ocurren en superficie son consecuencias de malas prácticas de operación en instalaciones industriales que se dieron en el pasado y que aún siguen sin ser atendidos, por ejemplo, pequeños escurrimientos de combustibles durante la carga y descarga de auto tanque o durante la reparación de líneas de conducción, o bien, escurrimientos de aceites y combustibles durante la reparación de motores en talleres (Martínez y López, 2000).

Otro tipo de problemas son los debidos a la fuga de combustibles por fallas en instalaciones subterráneas, por ejemplo, en estaciones de servicios, terminales de almacenamientos y zonas de transportación por duetos, en los cuales la baja viscosidad de los combustibles ocasiona su migración de manera vertical hacia la profundidad del subsuelo, los cuales a la larga pueden alcanzar los mantos freáticos (INEGI, 2000). Otro tipo de problemas incluyen aquellos derivados de la toma clandestina de combustibles que, por no estar tipificada como un delito federal, en los últimos años ha surgido como una alternativa de interés para delincuentes, a pesar del peligro que conlleva y sin importar la afectación del suelo, cuerpos de aguas superficiales, mantos freáticos y el ambiente en general.

En México todavía se desconoce el tamaño real del problema, aunque se sabe, dada la importante actividad petrolera, que se cuenta con una cifra muy alta de sitios en donde se requiere efectuar acciones de remediación. En el inventario de residuos peligrosos de PEMEX en el 2001 reportan la generación de más de 270 mil toneladas de residuos peligrosos.

Aproximadamente el 86% del volumen total de estos residuos, corresponde a lodos y recortes de perforación (72 %), lodos aceitosos (8 %) y aceites gastados (6 %). Con respecto a los derrames y fugas de hidrocarburos, PEMEX reporta que durante el año 2001 hubo un total de 8,031 toneladas de hidrocarburos (crudo, diésel y gasolina) derramados en su mayoría en suelo, en los cuatro sectores de duetos del país.

Sin embargo, debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo, no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los productos petroquímicos básicos.

1.2.1.1 Composición y características de hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos formados por átomos de carbono e hidrógeno, de gran abundancia en la naturaleza, presentes principalmente en el petróleo (Chapín, 1988; PEMEX, 1988). El petróleo tiene una proporción de 76 a 86% de carbono y 10 a 14% de hidrógeno.

Se consideran como una mezcla compleja de gases, líquidos y sólidos, existiendo cantidades combinadas de nitrógeno, oxígeno y azufre, además de contener compuestos de hierro, níquel, vanadio y otros metales (PEMEX, 1988).

Son inmiscibles en agua, por lo que son conocidos como NAPLs (por sus siglas en inglés, "Non-Aqueous Phase Liquids") aquellos cuya densidad es menor a la del agua (LNAPLs, del inglés, "Light Non-Aqueous Phase Liquids") flotan en los cuerpos de aguas superficiales y en los mantos freáticos. El petróleo y sus productos derivados son mezclas complejas de diferentes compuestos químicos que tienen propiedades particulares.

Los hidrocarburos se clasifican de la siguiente forma:

- **Hidrocarburos biogénicos:** Estos son sintetizados por casi todas las plantas, animales terrestres y marinos, incluyendo a la microbiota, bacterias, plancton marino, diatomeas, algas y plantas superiores (Bedair y Al-Saad, 1992).
- **Hidrocarburos antrópicos:** Estos son introducidos como resultado de la actividad humana. Los procesos de combustión industrial contribuyen con la contaminación debido principalmente al humo generado por la quema del carbón, combustibles fósiles y petróleo refinado, las descargas de aguas municipales, las actividades de transporte y los derrames son algunas de las principales fuentes de estos contaminantes (Bidleman et al 1990).

Cuando los hidrocarburos se derraman sobre el suelo superficial, la característica que determina su migración vertical hacia la profundidad es la viscosidad, de manera que los productos más viscosos como petróleo crudo, combustóleo, aceites, lodos aceitosos y lodos de perforación, permanecen en las capas superficiales del suelo, mientras que los combustibles destilados, como gasolina, diesel, queroseno y turbosina, su menor viscosidad, penetran inmediatamente al suelo, donde varios factores contribuyen a su dispersión.

Entre estos factores están las características físicas y químicas del propio suelo como vimos anteriormente (permeabilidad, tipo de material geológico, textura y contenido de materia orgánica, entre otros), así como las características del sitio (profundidad el nivel freático, topografía, precipitación pluvial, extracción de agua de pozo). Otros factores adicionales como la solubilidad de algunos compuestos en agua, volatilidad e interacción con los componentes del suelo, son también determinantes en el proceso de dispersión (Cisneros, 2001).

De esta forma, los hidrocarburos contaminantes en el suelo pueden encontrarse en forma líquida como producto libre, los que son volátiles, estarán en forma gaseosa en el espacio poroso, otros estarán adsorbidos en la fase sólida del suelo, mientras que otros se encontrarán disueltos en el agua intersticial.

Los hidrocarburos de alta viscosidad que permanecen sobre el suelo sufren cambios químicos por efecto de las radiaciones solares, la pérdida de humedad y la acción de la naturaleza misma. Un contaminante que ha sufrido estos cambios comúnmente se dice que esta "intemperizado".

En forma general, el petróleo consta principalmente de cinco fracciones:

- Hidrocarburos saturados lineales y ramificados
- Hidrocarburos insaturados
- Hidrocarburos policíclicos aromáticos
- Resinas
- Asfáltenos

Dentro de estas fracciones, una clase de contaminantes que hoy llama particularmente la atención son los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA). El Interés en los mecanismos de biodegradación y destino ambiental de los HPA ha aumentado debido a su distribución en el ambiente y sus efectos perjudiciales sobre la salud humana (Menzie et al., 1992).

Por el incremento de combustibles fósiles, su ocurrencia en el ambiente se ha mantenido en aumento desde hace 150 años. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos constituyen una gran y diversa clase de compuestos orgánicos consistiendo de dos o más anillos aromáticos fusionados en varias configuraciones estructurales (Figura 1.1).

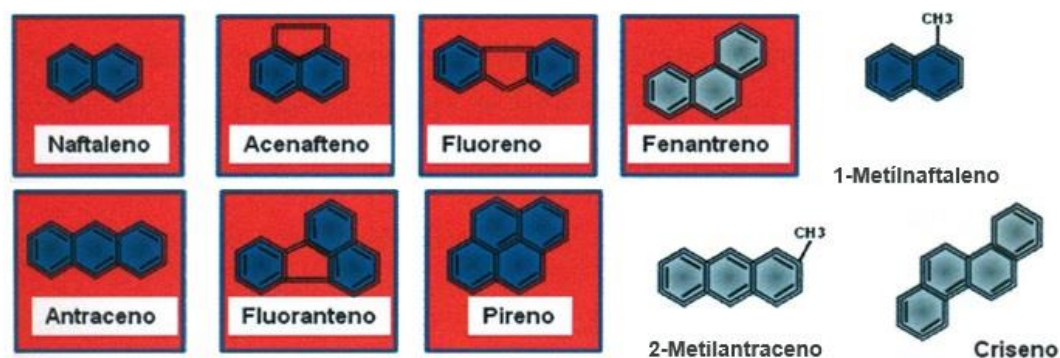


Figura 1.1 Estructuras moleculares de hidrocarburos policíclicos aromáticos con características mutagénicas y carcinogénicas.

Los HPA son formados a través de los procesos industriales y por la combustión incompleta de materia orgánica. Las fuentes primarias de entrada de HPA en el ambiente incluyen emisiones de procesos de combustión o derrames de productos del petróleo. La contaminación del suelo por aceite de las instalaciones gasificadoras de carbón son fuentes considerables de contaminación de HPA en muchos países. Fuentes antropogénicas, tales como emisiones de vehículos, incendios, plantas de poder, procesos industriales, desperdicios y quema al aire libre también son consideradas como las principales fuentes de contaminación (Menichini y Bocea, 2003).

Las concentraciones de HPA en el ambiente varían extensamente dependiendo de la proximidad de la fuente y del modo de transporte de los HPA al sitio. Las concentraciones de HPA en suelos contaminados o de sedimentos han sido reportadas en el orden de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ •

La agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (U.S. EPA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Comunidad Europea (CE) debido a sus efectos carcinogénicos y mutagénicos (Angelova et al, 1999) clasifican a 16 HPA como contaminantes prioritarios. De éstos HPA, el benzo (a)pireno es incluido como uno de los 12 compuestos objetivos o grupos definidos en la nueva estrategia de la U.S. EPA para controlar contaminantes persistentes, bioacumulativos y tóxicos. La mayoría de los HPA ocurren como híbridos que abarcan varios compuestos estructurales tales como el benzo(a)pireno. Para la mayoría de los HPA, el incremento de la hidrofobicidad y estabilidad electroquímica son correlacionados con un incremento en el peso molecular y angularidad de la molécula del HPA. La estabilidad molecular e hidrofobicidad son 2 factores principales que contribuyen a la persistencia de altos pesos moleculares de HPA en el ambiente, como es mostrado por múltiples estudios correlacionando la biodegradación y el tamaño molecular de HPA (Bidleman et al., 1990; Bedairy Al-Saad , 1992; Berti et al., 2000) . La genotoxicidad de los HPA aumenta cuando es mayor el peso molecular.

Los mecanismos de HPA en suelos incluyen volatilización, filtración y adsorción irreversible o modificaciones fotolíticas, químicas o biológicas. Aunque la biorremediación de suelos contaminados con HPA es una alternativa promisoría como estrategia de remediación, la biorremediación de HPA en el ambiente es limitada por varios factores. Uno de los mayores factores es la disponibilidad de HPA a microorganismos debida a su baja solubilidad y fuerte adsorción al suelo (Ehlers y Luthy, 2003). Una de las opciones para incrementar la biodisponibilidad de HPA es el uso de surfactantes, los cuales incrementan la desorción y aparente solubilidad en la fase acuosa. Varios reportes han mostrado mejores remociones de contaminantes en laboratorio y a nivel campo con el uso tanto de surfactantes sintéticos como con biosurfactantes.

CAPITULO II

DEFINICIÓN DEL PROYECTO

En el presente trabajo se propone evaluar las características surfactantes y modificaciones estructurales moleculares de tres ácidos húmicos extraídos de compostas y vermicomposta, con el propósito de emplearlos como potenciales biosurfactantes en la remediación de suelo contaminado con poliaromáticos (naftaleno, antraceno y pireno) mediante el proceso de lavado.

CAPITULO III

JUSTIFICACIÓN

La liberación de una amplia gama de compuestos tóxicos, orgánicos e inorgánicos, derivados tanto de procesos naturales como industriales, han provocado un deterioro en la calidad del medio ambiente, generando la contaminación de espacios naturales como consecuencia de su acumulación en fuentes de agua, suelo y sedimentos. El interés en la recuperación de sitios contaminados radica en que su número aumenta cada año, al igual que la cantidad y complejidad de los residuos tóxicos, y que se ha generado conciencia social respecto de los riesgos para la salud humana y para los diferentes ecosistemas.

Hoy en día las actividades que se realizan para el manejo y control de residuos peligrosos, son confinamiento, reciclaje, tratamiento físico, químico y biológico.

Los procesos físico-químicos suponen una solución temporal, no se enfocan en la recuperación del lugar o en la destrucción del contaminante y pueden ser de un elevado costo. Así como las tecnologías convencionales presentan desventajas, la disponibilidad del contaminante es el factor limitante en los procesos de biorremediación de sitios contaminados. La mayoría de los contaminantes orgánicos liberados al medio ambiente son hidrófobos y, por lo tanto, menos disponibles para los procesos de biodegradación.

En los últimos años, se ha desarrollado el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, empleando la tecnología de lavado. El lavado de suelo, consiste en excavar el suelo contaminado, posteriormente lavarlo con soluciones surfactantes (químicos o sintéticos) en una unidad de lavado, con el propósito de disolver el contaminante, lográndose así su transferencia a la fase acuosa. Este tratamiento es relativamente rápido y permite tratar grandes extensiones de suelo contaminado. Al finalizar el lavado de suelo, la fase líquida se envía a una planta de tratamiento de aguas mientras que la fase sólida se enjuaga nuevamente con agua limpia (Van Deuren et al., 2002). Sin embargo, el uso de estos compuestos surfactantes agrega un contaminante extra al suelo. Por otro lado, la mayoría de los estudios de degradación y lavado de suelo se han enfocado en evaluar el efecto de los surfactantes sintéticos y pocos han considerado los surfactantes naturales (biosurfactantes). La utilización de surfactantes naturales presenta ventajas respecto de los sintéticos, debido a que no son tóxicos y son degradados por los microorganismos (Conte et al., 2005) debido a que el ácido húmico es materia orgánica.

En estudios recientes se ha mostrado que el uso de ácido húmico extraído de suelo como biosurfactantes es aplicado para la remoción de hidrocarburos mediante el proceso de lavado (Perminova y Hatfield, 2005), encontrando que incrementan la solubilidad de hidrocarburos debido a su estructura anfifílica, pudiendo ser mejores que los surfactantes sintéticos debido a que no producen ningún efecto tóxico a los microorganismos (Conte et al., 2005).

En realidad, pocos estudios han llevado a cabo la adición de ácidos húmicos al suelo para evaluar el efecto que este tiene sobre la solubilidad de hidrocarburos, además solo han empleado materiales húmicos extraídos exclusivamente del suelo (Deschauer et al., 1994; Conte et al., 2005).

La importancia del presente estudio se basa en evaluar nuevos materiales húmicos, extraídos de residuos orgánicos estabilizados, como son las compostas y vermicomposta, buscando una alternativa innovadora, amigable con el medio ambiente y menos costosa con respecto a los surfactantes sintéticos, generalmente empleados en los procesos de remoción de hidrocarburos en suelo, mediante la tecnología de lavado.

CAPITULO IV

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar las características fisicoquímicas de los ácidos húmicos extraídos de compostas/vermicomposta y correlacionarlas con sus propiedades surfactantes, así como aplicar soluciones de estos ácidos húmicos en procesos de lavado de suelos contaminados con hidrocarburos poliaromáticos.

Objetivos específicos:

- Realizar la caracterización fisicoquímica de los ácidos húmicos extraídos de compostas y vermicomposta.
- Evaluar las propiedades surfactantes de los ácidos húmicos en estudio, mediante pruebas de tensión superficial realizadas a diferentes concentraciones, diferentes valores de pH y en presencia de cationes.
- Realizar el estudio de la modificación estructural molecular de los ácidos húmicos, ocurrida como efecto del medio de pH y adición de catión, mediante cromatografía de exclusión molecular, con el propósito de correlacionar estos cambios con las variaciones de la tensión superficial a las mismas condiciones.
- Realizar pruebas de lavado de suelo contaminado con naftaleno, antraceno y pireno utilizando ácidos húmicos en solución, para evaluar su uso potencial y alternativa de los surfactantes sintéticos.

CAPITULO V

FUNDAMENTOS

5.1 Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos

La presencia de hidrocarburos en el suelo es un problema recurrente en nuestro país debido a problemas de fugas en instalaciones y ductos que se han presentado en los últimos años. A pesar de que los ambientes naturales cuentan con procesos de atenuación natural que permiten la eliminación de compuestos tóxicos del ambiente, se requieren decenas de años para que el crudo se degrade totalmente, con el consecuente daño tanto para la flora y fauna local como para el ser humano. Por este motivo, en el caso de ambientes altamente contaminados, es necesaria la acción del hombre para acelerar este proceso (Corona e Iturbide, 2005). Las acciones que se aplican al suelo y acuíferos y que tienen por objeto la reducción de los niveles de contaminación se conocen con el término de "remediación".

El término "tecnología de remediación" implica cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (PROFEPA, 2001). Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de desechos peligrosos que no han sido tratados, y sus capacidades o posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente.

5.1.1 Técnicas de remediación para suelo contaminado

Las tecnologías de remediación pueden clasificarse de diferentes maneras, en base a los siguientes principios: (i) estrategia de remediación; (ii) lugar en que se realiza el proceso de remediación, y (iii) tipo de tratamiento (Volke et al., 2002). Es importante mencionar que cada una de estas clasificaciones proporciona diferente información acerca de las tecnologías de remediación. A continuación, se describen con más detalle las clasificaciones anteriores.

5.1.2 Estrategia de remediación

Son tres estrategias básicas que pueden usarse separadas o en conjunto, para remediar la mayoría de los sitios contaminados:

- **Destrucción o modificación de los contaminantes:** Este tipo de tecnologías busca alterar la estructura química del contaminante.
- **Extracción o separación:** Los contaminantes se extraen y/o separan del medio contaminado, aprovechando sus propiedades físicas o químicas (volatilización, solubilidad, carga eléctrica).
- **Aislamiento o inmovilización del contaminante:** Los contaminantes son estabilizados, solidificados o contenidos con el uso de métodos físicos o químicos.

5.1.3 Lugar de realización del proceso de remediación

En general, se distinguen dos tipos de tecnología según el lugar de la realización del proceso de remediación:

- **In situ:** Son las aplicaciones en las que el suelo contaminado es tratado, o bien, los contaminantes son removidos del suelo contaminado, sin necesidad de excavar el sitio. Es decir, se realizan en el mismo sitio en donde se encuentra la contaminación.
- **Ex situ:** La realización de este tipo de tecnologías, requiere de excavación, dragado o cualquier otro proceso para remover el suelo contaminado antes de su tratamiento que puede realizarse en el mismo sitio (on site) o fuera de él (off site).

En la tabla 5.1 se presenta un resumen de las ventajas y desventajas de ambos tipos de tecnología.

Tabla 5.1 Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación *in situ* y *ex situ*.

	<i>In situ</i>	<i>Ex situ</i>
Ventajas	<ol style="list-style-type: none"> 1) Permiten tratar el suelo sin necesidad de excavar ni transportar 2) Potencial disminución en costos 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Menor tiempo de tratamiento. 2) Más seguros en cuanto a uniformidad: es posible homogeneizar y muestrear periódicamente
Desventajas	<ol style="list-style-type: none"> 1) Mayores tiempos de tratamiento 2) Pueden ser inseguros en cuanto a uniformidad: heterogeneidad en las características del suelo 3) Dificultad para verificar la eficacia del proceso 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Necesidad de excavar el suelo. 2) Aumento en costos e ingeniería para equipos 3) Debe considerarse la manipulación del material y la posible exposición al contaminante

5.1.4 Tipo de tratamiento

Esta clasificación se basa en el principio de la tecnología de remediación y se divide en tres tipos de tratamiento: tratamientos biológicos, fisicoquímicos y térmicos (Volke et al., 2002).

5.1.4.1 Tratamientos biológicos (biorremediación)

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar y transformar a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos o remover compuestos orgánicos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren et al., 1997).

Las rutas de biodegradación de los contaminantes orgánicos, varían en función de la estructura química del compuesto y de las especies microbianas degradadoras.

El proceso de biorremediación incluye reacciones de óxido-reducción, procesos de sorción e incluso procesos de intercambio iónico (Eweis et al., 1998).

El estudio de la biorremediación ganó impulso luego del vertido de crudo del buque Exxon Valdez en Alaska el 24 de marzo de 1989. En general se basa en dos mecanismos: la bioestimulación, que consiste en agregar fertilizantes fosforados y nitrogenados de manera de otorgar aceptores de electrones y nutrientes al ambiente y así favorecer el aumento de la carga microbiológica autóctona, y la bioaumentación, que consiste en inocular cepas o consorcios de microorganismos especialmente formulados para sanear un determinado sitio.

Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos totales del petróleo (HTPs), solventes (benceno y tolueno) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) (Van Deuren et al., 1997; Semple et al., 2001).

Uno de los grandes problemas que tiene la biorremediación es, justamente, la baja biodisponibilidad de los hidrocarburos debido a su escasa solubilidad en agua y su alta adherencia a las moléculas del suelo. Debido a la naturaleza hidrofóbica de los hidrocarburos, es necesario aumentar la disponibilidad de los hidrocarburos ya sea para su mejor extracción o para su biodegradación mediante el uso de agentes surfactantes.

5.1.4.2 Tratamiento fisicoquímico

Los tratamientos fisicoquímicos aprovechan las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación. Este tipo de tecnologías generalmente son efectivas en cuanto a costos y pueden concluirse en periodos cortos, en comparación con las tecnologías de biorremediación. Sin embargo, los costos pueden incrementarse cuando se utilizan técnicas de separación en las que los contaminantes pueden requerir de tratamiento o disposición (Van Deuren et al., 1997). Mientras que las tecnologías de biorremediación son principalmente métodos destructivos, las fisicoquímicas incluyen las tres estrategias básicas de acción sobre el contaminante (destrucción, separación e inmovilización).

Al igual que el resto de las tecnologías de remediación, las fisicoquímicas pueden realizarse in situ o ex situ. Entre las tecnologías fisicoquímicas para tratamiento in situ, se encuentra la remediación electrocinética (RE), el lavado de suelos (LS), la extracción por solventes (ES), la extracción de vapores (EV) y la solidificación /estabilización (S/E) (Cisneros, 2001).

5.1.4.3 Tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos ofrecen tiempos muy rápidos de limpieza, pero son generalmente los más caros. Esto es debido a los altos costos de la energía y equipos utilizados, además de ser intensivos en cuanto a mano de obra. Al igual que las tecnologías fisicoquímicas y a diferencia de las biológicas, los procesos térmicos incluyen la destrucción, separación e inmovilización de contaminantes. Los procesos térmicos utilizan la temperatura para incrementar la volatilidad (separación), quemado, descomposición (destrucción) o fundición de los contaminantes (inmovilización).

Las tecnologías térmicas de separación producen vapores que requieren de tratamiento en tanto que las destructivas producen residuos sólidos (cenizas) y, en ocasiones, residuos líquidos que requieren de tratamiento o disposición. Es importante hacer notar que, para ambos tipos de tratamiento, el volumen de residuos generados que requieren de tratamiento o disposición, es mucho menor que el volumen inicial (Van Deuren et al., 1997).

La mayoría de las tecnologías térmicas pueden también aplicarse in situ y ex situ. Dentro de las tecnologías térmicas ex situ, principalmente se encuentran la incineración, pirolisis y deserción térmica. Una de las tecnologías que se emplean in situ es la EV mejorada por temperatura.

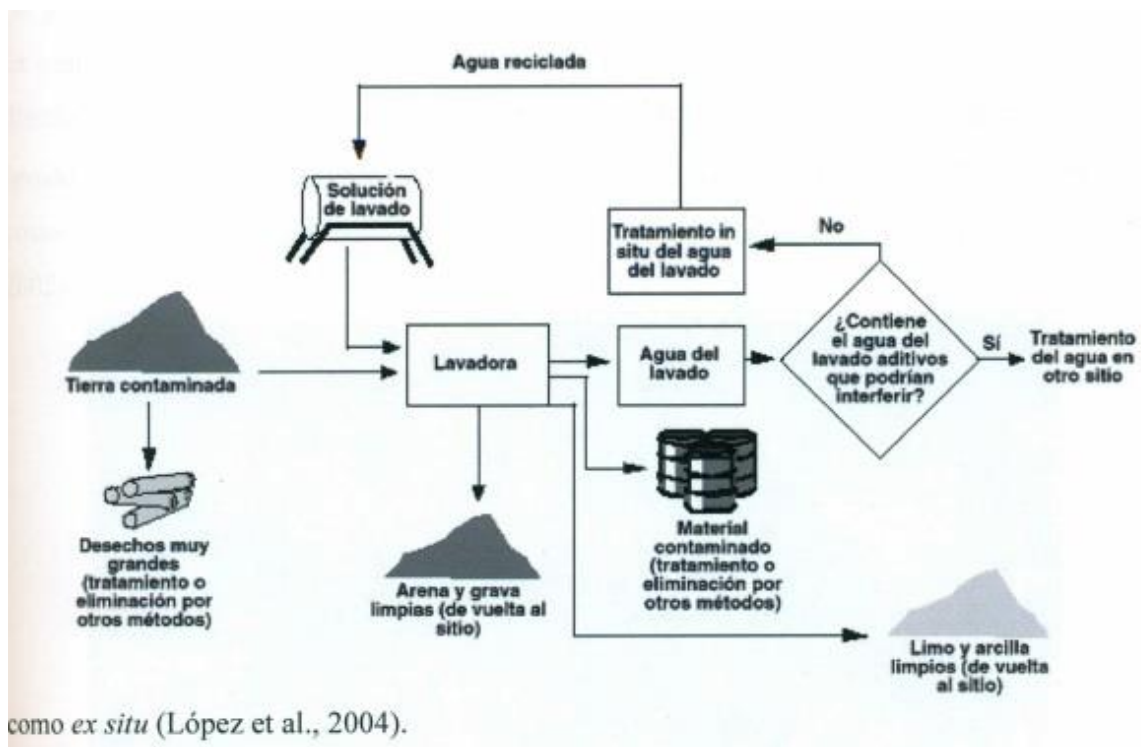
5.1.4.4 Comparativo de los tratamientos biológicos, fisicoquímicos y térmicos

En México se ha utilizado la biorremediación para la recuperación de vanos sitios contaminados por la industria petrolera con resultados regulares debido a problemas en la estimulación de las bacterias y del monitoreo continuo de los sitios. Tecnologías térmicas como el proceso de incineración, la desorción térmica, extracción con vapor o la vitrificación resultan demasiado costosas y/o ecológicamente incompatibles para considerarse como una solución viable.

5.1.5 Lavado de suelo contaminado con hidrocarburos

A escala de campo, uno de los tratamientos fisicoquímicos frecuentemente usado para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos es el lavado de suelo (soil-washing). El lavado de suelos es una tecnología en la cual el suelo contaminado se extrae y se lava con soluciones de agentes extractantes que se colocan en una unidad de lavado con el fin de disolver o arrastrar el contaminante, lográndose así su transferencia a la fase acuosa (Figura 5.1).

Este tratamiento es relativamente rápido, de costo moderado y permite tratar grandes extensiones de suelo contaminado y además recuperar parte del hidrocarburo ya sea in situ.



como *ex situ* (López et al., 2004).

El proceso consiste en tres etapas: mezclado, lavado y enjuagado. Antes de iniciar, el material contaminado se tamiza para retirar los objetos de mayor tamaño. Posteriormente, el suelo se adiciona a la unidad de lavado, en donde se mezcla y se lava con el uso de agua con o sin surfactantes químicos, en un proceso en lote o continuo. Al finalizar el lavado del suelo, la fase líquida se envía a una planta de tratamiento de aguas mientras que la fase sólida se enjuaga nuevamente con agua limpia (Van Deuren et al., 2002).

El uso de agua como solución de extracción es efectivo para la remoción de compuestos orgánicos solubles de bajo peso molecular (alcoholes y fenoles). Por otra parte, cuando se trata de remover hidrocarburos de alto peso molecular (hidrocarburos poliaromáticos) se emplean soluciones acuosas de surfactantes químicos. Sin embargo, el uso de estos compuestos puede agregar un contaminante extra al sistema, lo que debe tenerse en cuenta al elegir la naturaleza de este agente.

En general, el lavado de suelos es una alternativa relativamente económica para la remoción de contaminantes, ya que minimiza el volumen del material contaminado y, por consiguiente, disminuye la cantidad a confinar o a tratar. Actualmente existen sistemas móviles para el lavado de suelos que se pueden transportar al sitio contaminado (Figura 5.2), disminuyendo costos y el riesgo de dispersar los contaminantes durante el transporte (Van Deuren et al., 2002).

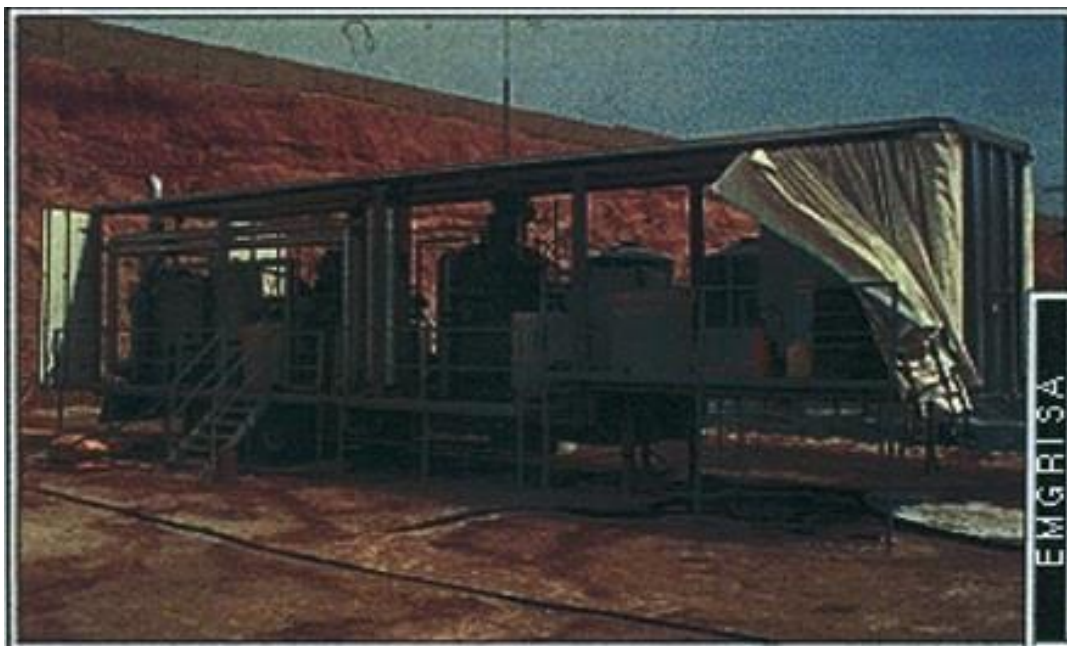


Figura 5.2 Unidad móvil de lavado de suelo contaminado con hidrocarburos.

Las principales ventajas y limitaciones de este proceso se resumen en la Tabla

5.3. De acuerdo a esta tabla el lavado puede ser un tratamiento de bajo costo, efectivo para suelos arenosos, no requiere de infraestructura sofisticada y como se realiza en un sistema cerrado se pueden controlar las condiciones del sistema y las emisiones al ambiente. Por el contrario, para llevar a cabo este proceso se requiere realizar la excavación del suelo y su movimiento, la presencia de materia orgánica puede dificultar el proceso de extracción, los contaminantes deben de ser solubles, no es eficiente para mezclas complejas y requiere de cantidades importantes de agua que luego debe ser tratada.

Tabla 5.3 Ventajas y desventajas del tratamiento de lavado de suelo.

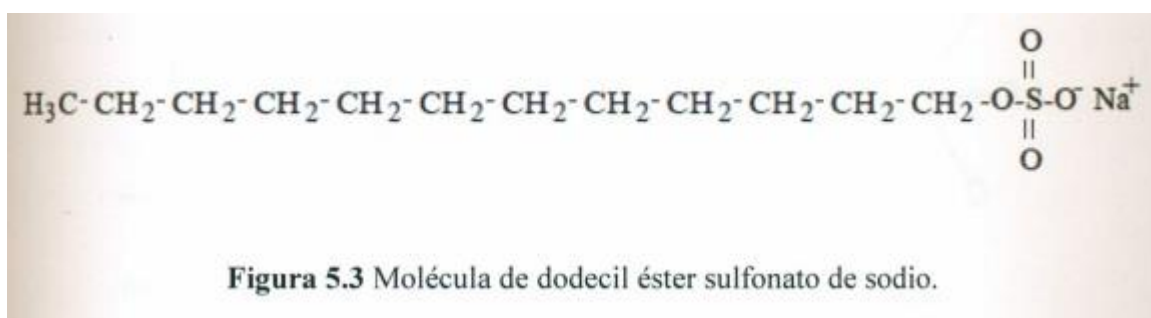
Ventajas	Desventajas
Bajos costos	Se requiere excavar y manipular el suelo
Efectivo para tratar suelos arenosos o muy permeables	Altas cantidades de materia orgánica dificultan el proceso de separación
Disminuye la cantidad de material contaminado	No es eficiente para tratar mezclas complejas
No requiere de infraestructura sofisticada	Los contaminantes deben ser solubles
Son sistemas cerrados, en donde se pueden controlar las condiciones del sistema y las emisiones al ambiente	Requiere de grandes cantidades de agua y se necesitan procesos secundarios para tratar aguas residuales

5.2 Surfactantes

Debido a las limitaciones en la solubilidad de los contaminantes que pueden estar presentes en suelos contaminados, con frecuencia es necesario la adición de un agente surfactante que permita hacer más eficiente el proceso de extracción de los contaminantes.

La definición de lo que es un surfactante se encuentra en la palabra misma, que resulta de la concentración de tres palabras inglesas, SURFACE-ACTIVE -AGENT, las cuales significan agente que actúa en las superficies. En otras palabras, los surfactantes son compuestos que se concentran o acumulan en la interface entre dos medios, alterando la tensión superficial.

Un surfactante es una sustancia cuya molécula posee una parte polar y una parte apolar. Por tal razón se encuentra en general ubicado en una interface aceite-agua, y son de uso común en prácticamente todas las ramas de la industria petrolera (Berti et al., 2002). Debido a esta característica, Paul Winsor les dio el nombre de moléculas anfífilas palabra construida a partir de dos raíces griegas. De una parte, el prefijo "amphi", que significa de ambos lados, doblemente o alrededor. Por otra parte, la raíz "philos" que significa amigo de, o hidrófilo (amigo del agua). Típicamente un anfífilo como se menciona tiene una molécula que se puede dividir en dos partes. Una parte polar que contiene heteroátomos tales como O, S, N, P, los cuales aparecen en grupos funcionales como alcohol, tiol, éter, éster, ácido, sulfato, sulfonato, fosfato, amina, amida, etc., y de otra parte, un grupo apolar compuesto en general por un hidrocarburo parafínico, cicloparafínico o aromático, el cual puede eventualmente contener halógenos. La parte polar tiene afinidad para los solventes polares, particularmente el agua, mientras que la parte apolar tiene afinidad para los solventes y compuestos orgánicos en general (Raiger et al., 2009). Por esta razón la parte polar se denomina también hidrofílica, mientras que a la parte apolar le corresponde el calificativo de lipofílico o hidrófobo. La Figura 5.3 muestra una molécula típica de un anfífilo.



Debido a su doble afinidad, una molécula anfífilica no se encuentra "cómoda" ni en solvente polar, ni en solvente orgánico. Para satisfacer ambos tipos de afinidades, el grupo polar debe estar solvatado por un solvente polar, mientras que el grupo apolar debe encontrarse en un solvente orgánico, o por lo menos fuera del solvente polar.

Tales condiciones ocurren solamente en la frontera de dos fases. Se llamará superficie a la frontera entre una fase condensada y un gas, e interfase a la frontera entre dos fases condensadas, es decir dos líquidos, o un líquido y un sólido.

De la fuerte afinidad para las superficies o interfases dependen muchas propiedades de los surfactantes. Según su acción o aplicación los anfífilos pueden llamarse también jabones, emulsionantes, espumantes y dispersantes. Prácticamente todas las aplicaciones provienen de las propiedades de los anfífilos en solución y de su capacidad de adsorberse en una superficie o interfase. Eso ocurre si ambas partes de la molécula de anfífilo tienen una fuerte caracterización polar o apolar.

5.1.1 Concentración micelar crítica (CMC)

A ciertas concentraciones los surfactantes son susceptibles de compatibilizar el agua con los aceites, permitiendo la formación de estructuras que asocian agua y aceite en una sola fase, llamada concentración micelar crítica (CMC), dando lugar a un descenso significativo de la tensión superficial (Figura 5.4).

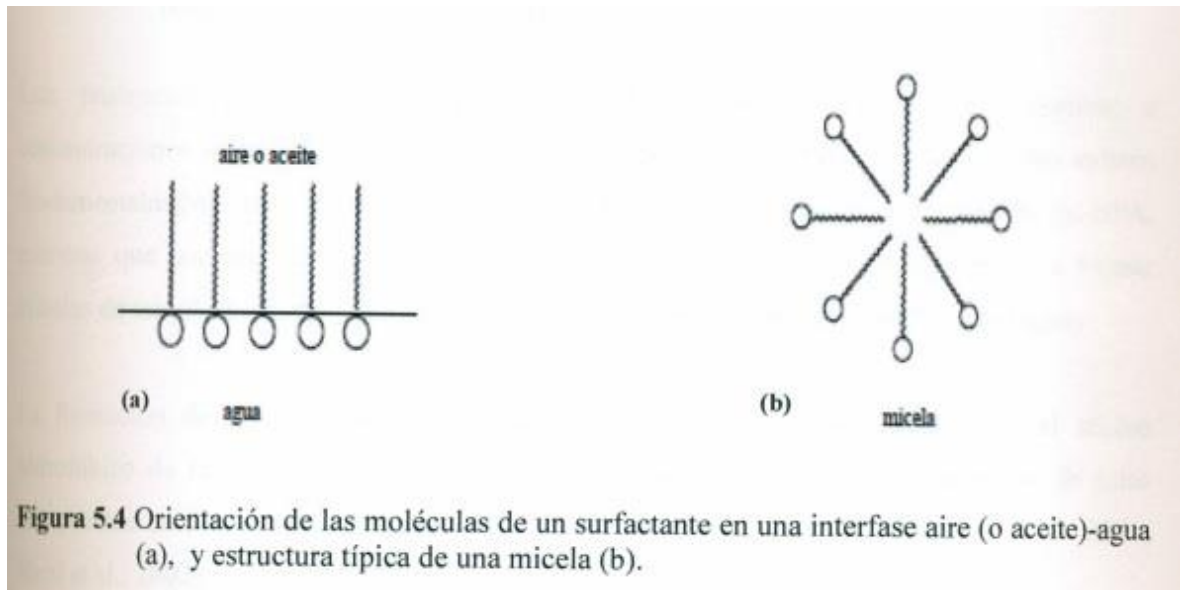


Figura 5.4 Orientación de las moléculas de un surfactante en una interfase aire (o aceite)-agua (a), y estructura típica de una micela (b).

Esta acción compatibilizadora se llama solubilización o co-solubilización y tiene muchas aplicaciones.

La Figura 5.5 muestra la variación de la concentración del aceite solubilizado en una solución de surfactante en función de la concentración de este último. A partir de la CMC, la solubilización aumenta considerablemente, ya que el hidrocarburo penetra dentro del corazón de las micelas.

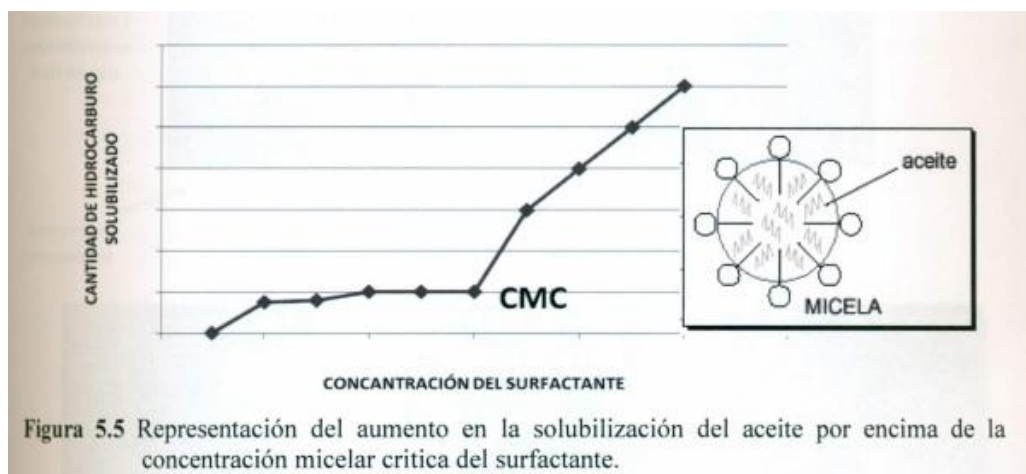


Figura 5.5 Representación del aumento en la solubilización del aceite por encima de la concentración micelar crítica del surfactante.

Este fenómeno se puede explicar más detalladamente de la siguiente manera; a concentraciones inferiores a la concentración micelar crítica (CMC), los surfactantes existen fundamentalmente como monómeros y no contribuyen a aumentar la solubilidad de los HPA, mientras que por encima de la CMC, los surfactantes adicionados se agregan para formar micelas de tamaño coloidal y poder realizar el aislamiento de su parte lipofílica del agua.

La formación de micelas permite que estos contaminantes se introduzcan en el núcleo hidrofóbico de las micelas, y de esta manera se aumenta la solubilidad aparente de estos compuestos en fase acuosa (Briganti et al., 1999; Berti et al., 2000; Randazzo et al., 2001; Berti et al., 2002).

Lo anterior explica que la solubilidad de los HPA sea proporcional a la concentración de los surfactantes cuando ésta es superior a la CMC (Figura 5.6). Cuando se emplean concentraciones menores o cercanas a la CMC, la adición de surfactantes no incrementa la solubilidad de los HPA (Kim et al., 2001; Li et al., 2002; Cassidy et al., 2002).

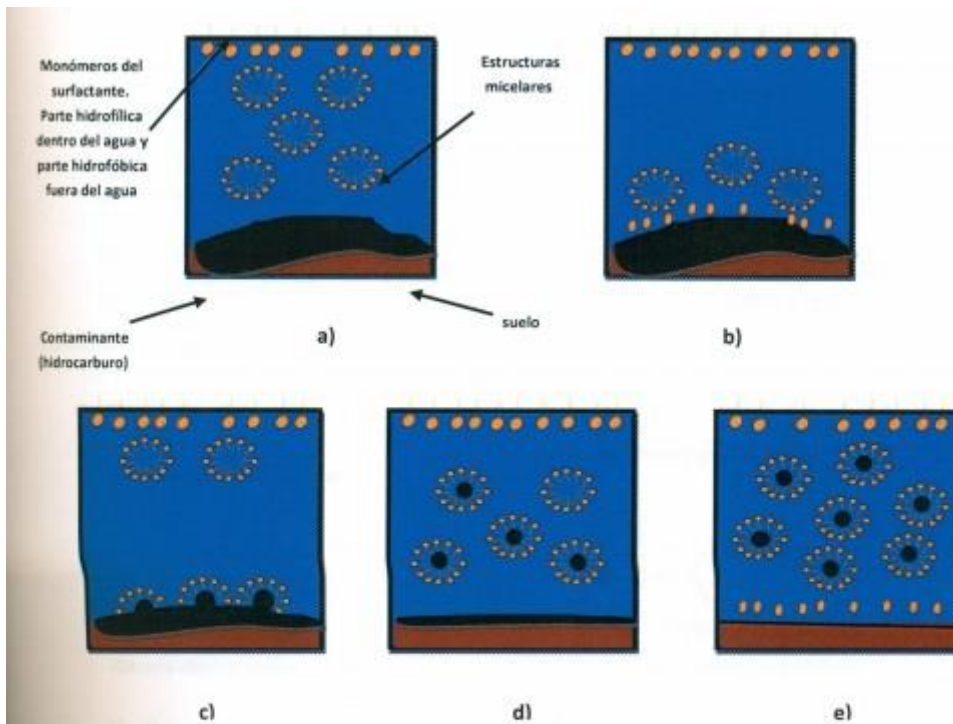
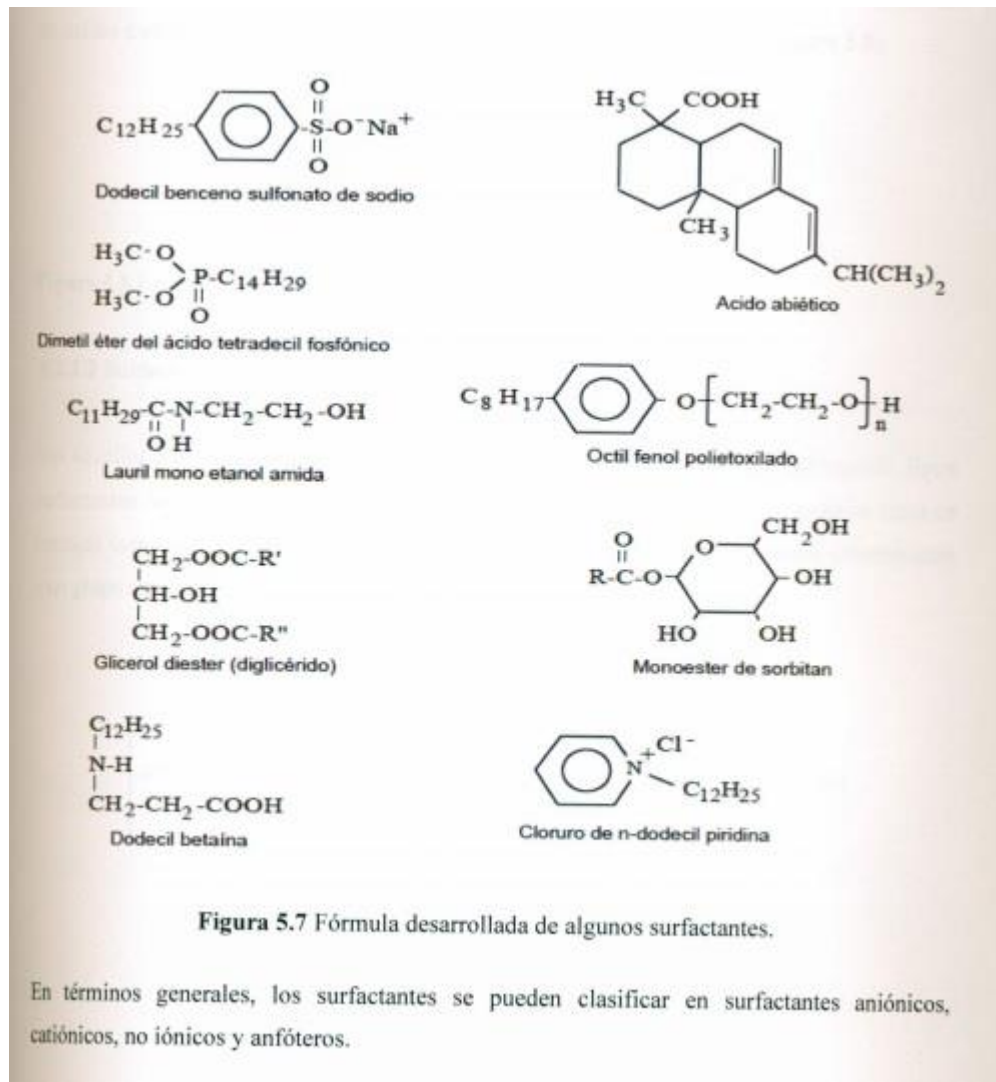


Figura 5.6 Efecto solubilizador de los agentes tensoactivos: a) el suelo contaminado con hidrocarburo entra en contacto con la solución surfactante; b) Los extremos hidrofóbicos de las moléculas de tensoactivo se disuelven en la grasa; c) El tensoactivo modifica el ángulo de contacto entre el contaminante y el suelo; d) El surfactante desplaza la mayor parte del contaminante del suelo en forma de coloide; e) Parte del surfactante queda adsorbido al contaminante no removido y al suelo (Aranberri et al., 2006).

5.2.2 Clasificación de surfactantes

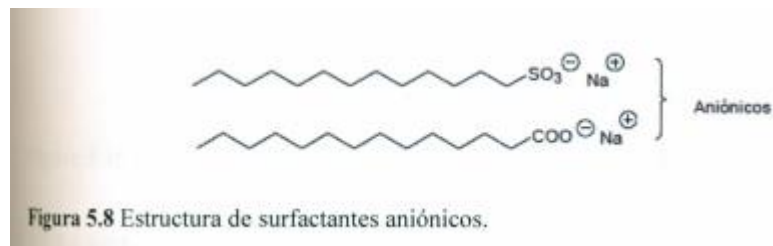
Los surfactantes se clasifican de acuerdo a su tipo de molécula, más particularmente en base al tipo de disociación de su molécula en solución. La Figura 5.7 indica algunos casos típicos.



En términos generales, los surfactantes se pueden clasificar en surfactantes aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros.

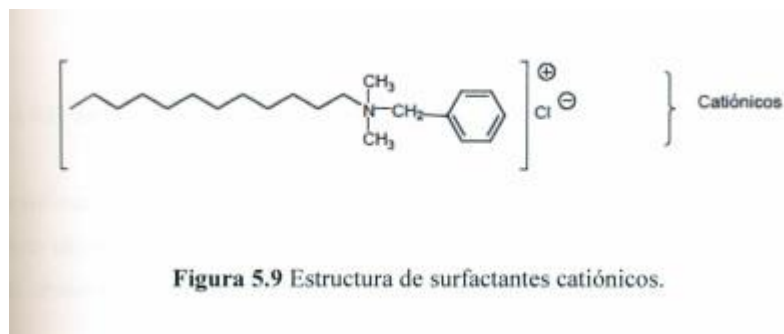
5.2.2.1 Surfactantes aniónicos

Son aquellos que en solución acuosa se disocian en un anión y un catión, el cual es generalmente un metal alcalino o un amonio cuaternario. A este tipo pertenecen los surfactantes de mayor producción: detergentes como alquilbenceno sulfonatos, jabones o sales de ácidos carboxílicos grasos, espumantes como el lauril éster sulfato etc. (Figura 5.8).



5.2.2.2 Surfactantes catiónicos

Son aquellos que se disocian en un catión y un anión generalmente de tipo halogenado. Estos surfactantes se usan solamente en aplicaciones especiales donde la carga positiva produce ventajas como en enjuagues o emulsiones asfálticas. En la mayoría de los casos corresponden a un grupo amonio cuaternario (Figura 5.9).



5.2.2.3 Surfactantes no iónicos

Por orden de importancia industrial vienen justo después de los aniónicos, y hoy en día su producción está aumentando. En solución acuosa no forman iones, ya que su parte hidrofílica está formado por grupos polares no ionizados como: alcohol, tiol, éter o éster. Una gran parte de estos surfactantes son alcoholes o fenoles etoxilados (Figura 5.10).

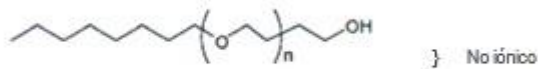


Figura 5.10 Estructura de surfactantes no iónicos.

5.2.2.4 Surfactantes anfóteros

La combinación en la misma molécula de un grupo con tendencia aniónica y de un grupo con tendencia catiónica produce un surfactante anfotérico, como por ejemplo los aminoácidos, las betainas o los fosfolípidos (Figura 5.11). Según el pH del medio una de las dos disociaciones prevalece. Este tipo de surfactante se usa sólo en casos particulares debido a su alto costo.

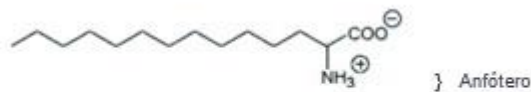


Figura 5.11 Estructura de surfactantes anfóteros.

Recientemente se ha producido surfactantes poliméricos al injertar sobre una macromolécula un cierto número de grupos hidrofílicos, o al producir la policondensación de grupos con ciertas características polares y apolares (óxido de etileno, óxido de propileno).

5.2.3 Uso de surfactantes en procesos de tratamiento de suelo

Cuando un suelo está contaminado con hidrocarburos, el lavado con agua elimina una fracción muy pequeña de los contaminantes presentes. Sin embargo, cuando se agrega un surfactante al agua puede disolverse para dar iones carboxilato que tienen un extremo iónico que es muy soluble en agua y un extremo de la cadena larga de hidrocarburos que tienen una fuerte atracción para las moléculas de aceite y grasa permitiendo que estas últimas se desprendan y sean arrastradas a la solución, de manera que se puedan remover. Esta clase de acción limpiadora se denomina acción detergente (Mulligan et al., 2001).

En general, los surfactantes son vertidos al suelo o aplicados mediante spray. La cantidad de solución que se utiliza depende de la cantidad de hidrocarburos que están presentes en el suelo. Típicamente el rango empleado es de 1 a 30 por ciento en peso basado en el contenido de contaminantes en el suelo (Jahnke et al., 2000). El empleo de surfactantes en la remediación debe ser analizado antes de su aplicación práctica, mediante ensayos a nivel de laboratorio, para determinar las condiciones óptimas de diseño del sistema tecnológico a gran escala. En estos experimentos se deben determinar la concentración de surfactantes que posibilite el mayor incremento en la remoción de los contaminantes, la biodegradabilidad del surfactante y su toxicidad hacia los microorganismos autóctonos.

En procesos de lavado de suelo es frecuente el uso de surfactantes sintéticos ya que pueden movilizar de manera eficiente los contaminantes orgánicos adsorbidos y absorbidos al suelo. No obstante, ellos pueden tener ciertos efectos negativos sobre el ambiente y ser tóxicos para los organismos vivos.

Por tal motivo existe la necesidad de la investigación de nuevas tecnologías aplicadas a la remoción de hidrocarburos en suelo, las cuales sean amigables con el ambiente. Actualmente la utilización de surfactantes naturales presenta ventajas respecto de los sintéticos, debido a que no son tóxicos, estos debido a su origen son llamados también biosurfactantes y su empleo parece ser una alternativa viable para sustituir a los surfactantes sintéticos (Mulligan, 2005).

5.3 Biosurfactantes

Algunos microorganismos poseen la capacidad de sintetizar compuestos con similares características a los surfactantes sintéticos denominados biosurfactantes. Los biosurfactantes presentan varias ventajas con respecto a los surfactantes químicos, entre ellas su biodegradabilidad, baja toxicidad, biocompatibilidad, especificidad y la amplia variedad de estructuras químicas disponibles. En general estos bioproductos son igual de efectivos en la solubilización de los contaminantes que los surfactantes químicos, pero al ser naturales, se producen cambios de menor impacto en el suelo tratado (Ron y Rosenberg, 2002). Estas características han permitido, en los últimos años, el desarrollo de técnicas de remediación y de recuperación asistida del petróleo residual que incluyen el uso de biosurfactantes, tanto a escala de laboratorio como a campo.

Los biosurfactantes al igual que los surfactantes también pueden aumentar el área de los materiales hidrofóbicos, aumentándose así su solubilidad en agua mediante la alteración de la tensión superficial (disminuyen la atracción de las moléculas de agua entre sí en la superficie). La habilidad de los biosurfactantes para solubilizar hidrocarburos mezclados con agua ha sido ampliamente divulgada. Estas propiedades también se ha demostrado que favorecen la degradación de los hidrocarburos en el medio ambiente, por tanto los hacen muy útiles para el control de la contaminación por vertidos de aceites.

En el sector ambiental los biosurfactantes muestran aplicaciones prometedoras en la remediación y en el tratamiento de aguas residuales para remover compuestos tóxicos y peligrosos. En la dispersión de derrames petroleros tanto a nivel del suelo como en agua, en la remoción y movilización el petróleo pegado en el interior de los tanques y también en la recuperación mejorada del petróleo (Urum et al., 2006).

Los biosurfactantes son moléculas complejas, que comprenden una gran variedad de estructuras químicas como son los glicolípidos, lipopéptidos, ácidos grasos, complejos de proteína-polisacárido, péptidos, fosfolípidos y lípidos naturales. Algunas especies *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium* y *Torulopsis* son productoras de una gran variedad de glicolípidos (Guo y Mulligan, 2006). Se ha encontrado que los microorganismos como *Pseudomonas* y algunas otras bacterias productoras de biosurfactantes son importantes para el crecimiento microbiano y para su supervivencia en el ambiente. Por ejemplo la producción de surfactina es necesaria para la formación del cuerpo fructífero de *Bacillus subtilis*, y los ramnolípidos son necesarios para la formación de biopelículas y estas son formadas por *Pseudomonas*.

Por otro lado, en estudios recientes el uso de ácido húmico como biosurfactante, ha sido aplicado para la remoción de hidrocarburos presentes en suelo mediante el proceso de lavado (Perminova y Hatfield, 2005), encontrando que incrementan la solubilidad de hidrocarburos pudiendo ser mejores que los surfactantes sintéticos debido a que no producen ningún efecto tóxico a los microorganismos.

Las interacciones de los ácidos húmicos (AH) con compuestos orgánicos han sido sujeto de estudios intensivos especialmente para procesos de absorción envolviendo la partición de solutos orgánicos entre fases orgánicas acuosas y del suelo. Los resultados son generalmente correlacionados con coeficientes de partición y han sido descritos con razonable éxito por Flory-Huggins y la teoría modificada de Flory-Huggins.

5.4 Sustancias húmicas

Las sustancias húmicas son compuestos de naturaleza lignoprotéica y comprenden alrededor del 60 a 80% de la materia orgánica del suelo (Gallardo, 1980). Están constituidas por moléculas enormes con estructura y composición variables. Las sustancias húmicas están caracterizadas por estructuras aromáticas, cíclicas que incluyen polifenoles (numerosos compuestos fenólicos agrupados) y poliquinonas similares que son aún más complejas. Generalmente son sustancias de color oscuro, amorfas, con pesos moleculares que varían de 2,000 a 300,000 g mol⁻¹. Debido a su complejidad, son los materiales orgánicos más resistentes al ataque microbiano, en el suelo se encuentran asociadas, mediante uniones de carácter débil (puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals) a otra fracción orgánica constituida por productos de composición química definida y de alto peso molecular, polisacáridos y proteínas, sustancias simples como azúcares y aminoácidos y otras pequeñas moléculas. Sin embargo, en algunos casos, esas uniones son de tipo covalente.

Actualmente se conoce, dentro de ciertos intervalos, la composición elemental de las sustancias húmicas. Sin embargo la complejidad intrínseca de estos materiales debida a la variabilidad de factores que intervienen en su formación (material original, microorganismos del suelo y condiciones ambientales), hace que el estudio de las estructuras químicas que las conforman y de sus efectos sobre las plantas sea realmente complicado. Por consiguiente, la incapacidad de definir las sustancias húmicas en términos químicos específicos nos fuerza a usar definiciones imprecisas, en base únicamente a las características observadas en los procesos de su fraccionamiento. Desde fines del siglo XVIII, a las sustancias húmicas se las clasificó como ácidos húmicos, ácidos fúlvicos o huminas. Estas fracciones se definen basándose estrictamente en su solubilidad ya sea en ácido o álcali, describiendo estos materiales operacionalmente y por lo tanto impartiendo poca información química acerca de los materiales extraídos (Stevenson, 1994).

De acuerdo a su solubilidad tenemos tres grupos de sustancias húmicas (ver Figura 5.12):

Ácidos fúlvicos (AF): los de peso molecular más bajo y de color más claro, solubles tanto en ácido como en álcali y más susceptibles al ataque microbiano.

Ácidos húmicos (AH): de peso molecular y colores medianos, solubles en álcali pero insolubles en ácido y de resistencia intermedia a la degradación.

Huminas (HM): las de peso molecular más alto, de color más oscuro, insolubles tanto en ácido como en álcali y las más resistentes al ataque microbiano.



Figura 5.12 El sentido de las flechas indica un incremento en las propiedades correspondientes.

La mayor parte de los estudios acerca de las sustancias húmicas se han llevado a cabo sobre las fracciones húmicas y fúlvicas, siendo la humina la que se ha estudiado en menor extensión (Rice y Mac Carthy , 1991).

La humina corresponde al 50% o más de la materia orgánica del suelo, está constituida por ácidos húmicos tan íntimamente unidos a la parte mineral del suelo que no pueden separarse de ella; así como también por sustancias húmicas de alta condensación y con un contenido de carbono superior al 60%. Por otro lado, los ácidos húmicos y fúlvicos son más activos tanto química como geológicamente (Ayuso y Hernández , 1996).

5.4.1 Formación de las sustancias húmicas

La formación de sustancias húmicas (SH) es uno de los aspectos de la química del humus menos esclarecidos y más intrigantes.

Las reacciones de humificación comienzan mediante reacciones químicas o bioquímicas realizadas por una gran variedad de microorganismos, los compuestos como proteínas, carbohidratos, ligninas, taninos, fenoles, polifenoles, procedentes de la biomasa son parcialmente transformados en una serie de compuestos simples que experimentan reacciones para formar nuevos compuestos (Simpson et al., 2002).

Estas reacciones son de polimerización, repolimerización, condensación y recondensación; son complejas y no están suficientemente estudiadas. Muchas de estas reacciones son facilitadas por enzimas liberadas por microorganismos.

Varias hipótesis se han emitido para dar explicación sobre su síntesis en la naturaleza. La teoría popularizada por Waksman (Stevenson, 1994), fue que las SH son el resultado de modificaciones hechas a estructuras de lignina (Figura 5.13).

De acuerdo con esta teoría, la lignina es utilizada de forma incompleta por microorganismos, generando con ello residuos que terminan siendo parte del humus del suelo.

La modificación de la lignina involucra la pérdida de grupos metoxilo (-OCH₃) y la generación de o-hidroxifenoles, así como la oxidación de cadenas alifáticas laterales que generan grupos -COOH. El material modificado está sujeto a cambios futuros desconocidos que dan origen a los AH y a los AF.

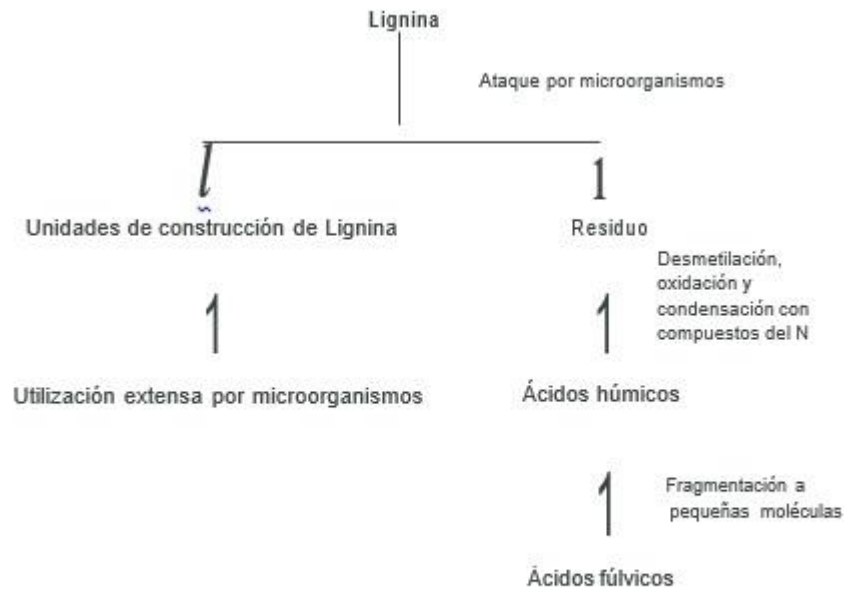


Figura 5.13 Teoría de la formación de SH a partir de la lignina según Waksman (Stevenson, 1994).

A pesar que la teoría de la lignina es comúnmente considerada para explicar la formación de SH, hoy en día la mayoría de los investigadores están a favor de las rutas propuestas por Stevenson (1994), estas rutas se ilustran en la Figura 5.14 en las cuales explica que macromoléculas como carbohidratos y proteínas son degradadas por el ataque microbiano para formar el corazón de las sustancia húmicas; mientras que compuestos refractarios o biopolímeros (ejemplo lignina, parafina, melanina y cutina), son transformados para producir a una sustancia de alto peso molecular precursora de la humina.

La mayor oxidación de estos materiales genera grupos funcionales con mayor contenido de oxígeno, las moléculas se vuelven bastantes pequeñas e hidrófilas como para ser solubles en una disolución alcalina (ácidos húmicos).

Eventualmente las moléculas se hacen más pequeñas y se enriquecen más en oxígeno, así se disuelven en ácidos y bases (ácidos fúlvicos).

La mayor degradación produce estructuras que tienen algunas características originales pero que no se parecen estructuralmente al material del que proceden.

Como alternativa, se ha desarrollado otra hipótesis que se basó en que los biopolímeros de las plantas son inicialmente degradados hasta moléculas pequeñas, después éstas moléculas son repolimerizadas para formar las sustancias húmicas.

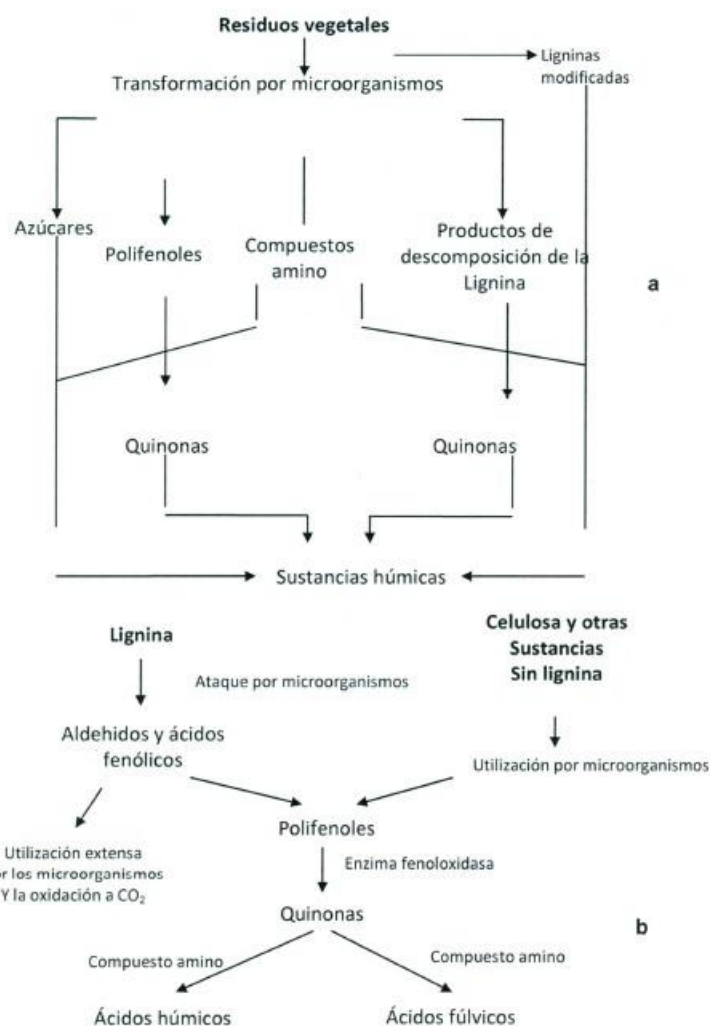


Figura 5.14 Rutas de formación de sustancias húmicas propuestas por Stevenson basadas en la formación de quinonas (Stevenson, 1994).

5.4.2 Métodos de extracción de sustancias húmicas

La mayor parte de la materia orgánica de los suelos y sedimentos se encuentra en formas insolubles: complejos macromoleculares aislados o unidos mediante cationes di y trivalentes (Ca^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+}), en combinación con componentes inorgánicos como arcillas, para formar el complejo arcillo húmico o atrapada entre las láminas de arcillas expandidas (tipo de sustancias húmicas no es extraíble por métodos convencionales, pero sí con un tratamiento previo de destrucción de la arcilla con HF). Dado que las sustancias húmicas son polielectrolitos, como ya se ha dicho, permanecen insolubles en el agua del suelo cuando sus cargas están saturadas por cationes di y trivalentes, o por iones hidrógeno. Cuando éstos se reemplazan por cationes monovalentes como Na^{+} o K^{+} , tiene lugar la solvatación de los polianiones, que se disuelven en agua (Ayuso, 1996).

Un método de extracción de ácidos húmicos debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Conseguir extraer las sustancias húmicas sin alterarlas
2. Que las sustancias húmicas extraídas no contengan contaminantes inorgánicos tales como arcillas o cationes polivalentes
3. La extracción debe ser completa, siendo por tanto representativa de todas las fracciones de distinto peso molecular
4. El método debe ser aplicable a todos los suelos

O existe ningún extractante que cumpla todos estos requisitos, los más empleados se encuentran en la Tabla 5.4 (Stevenson, 1994) donde destacan las bases fuertes como el hidróxido de sodio y las sales neutras como el pirofosfato de sodio ($\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$) como los extractantes más utilizados.

Tabla 5.4 Extractantes para los constituyentes orgánicos del suelo (Stevenson, 1994).

Tipo de material	Extractante	Materia orgánica extraída (%)
Sustancias húmicas	KOH	Hasta 80%
	NaOH	Hasta 80%
	Na ₂ CO ₃	Hasta 30%
	Sales neutras	Hasta 30%
	Na ₂ P ₂ O ₇	
	Sales orgánicas	Hasta 30%
	Quelatos	Hasta 30%
	Acetilacetona	
Ácido fórmico	Hasta 55%	
Compuestos hidrolizables	Acetona/H ₂ O/HCl	Hasta 20%
	Aminoácidos	25-45%
	Azúcares	
	Polisacáridos	Menor al 5%

5.4.2.1 Extracción alcalina

El empleo de disoluciones alcalinas, generalmente NaOH, aunque también KOH, de 0.1 a 0.5 M en relación peso: volumen 1:2 a 1:5, es la técnica más frecuente para extraer la materia orgánica del suelo. Además, se trata del procedimiento más utilizado para la extracción de sustancias húmicas de tipo comercial como las que se van a estudiar en el presente trabajo. Para obtener un mayor rendimiento, se realizan extracciones sucesivas. El lavado con HCl diluido, que elimina el Ca y otros cationes polivalentes incrementa la eficiencia de la extracción (García et al., 1993). Para obtener un mayor rendimiento, se realizan extracciones sucesivas. El lavado con HCl diluido, que elimina el Ca y otros cationes polivalentes incrementa la eficiencia de la extracción (García et al., 1993).

Además, mediante el pretratamiento ácido pueden aumentar los contenidos de algunos micronutrientes como el hierro, tal y como comprobaron García et al. (1993) al hacer diversas extracciones de lignitos con NaOH y KOH con o sin tratamientos previos con HCl y HNO₃.

Se puede decir que con esta técnica se extraen dos terceras partes de la materia orgánica del suelo (Stevenson, 1994). Sin embargo, presenta algunos problemas: disuelven fracciones minerales (arcillas) que contaminan la materia orgánica, disuelven componentes estructurales y protoplasmáticos de la biomasa y tejidos frescos que se mezclan con la materia humificada.

Además, se producen auto-oxidaciones de algunos constituyentes orgánicos al contacto con el aire, así como condensaciones entre aminoácidos y grupos carbonilo de aldehídos aromáticos o quinonas para formar compuestos tipo húmico.

5.4.2.2 Extractantes suaves

Como alternativa a la agresividad de los extractantes alcalinos, se han venido utilizando algunos procedimientos más suaves. Entre otros, agentes complejantes como EDTA, acetilacetona, cupferrón y disolventes orgánicos de varios tipos como el tetrahidrofurano. Una manera de aumentar la efectividad de estos extractantes es la mezcla con otros productos, así según Stevenson (1994) las adiciones de urea en altas concentraciones (8 M) incrementa la efectividad de la extracción. Obviamente, aunque las alteraciones que se producen en la materia orgánica extraída son menores, la efectividad que muestran estos productos es también, mucho menor. Por ello se puede pensar que los extractantes suaves son más adecuados cuando la finalidad del producto extraído es su estudio y caracterización, sin embargo, para fines comerciales son los productos alcalinos los que se muestran más efectivos.

5.4.2.3 Na₄P₂O₇ y otras sales neutras

En muchos suelos y sedimentos, como ya se ha dicho, son algunos cationes polivalentes como el Ca²⁺, Fe³⁺ y Al³⁺ los que mantienen a la materia orgánica floculada. Por consiguiente, aquellos productos que inactiven dichos iones formando precipitados insolubles o complejos de coordinación solubles conseguirán solubilizar la materia orgánica. Algunos de estos ejemplos son el Na₄P₂O₇, el oxalato amónico y algunas otras sales neutras. De todos ellos, sin duda, el más utilizado es el pirofosfato sódico, que, aunque muestra una efectividad extractora de un 30% tan sólo, produce mínimas alteraciones en la materia orgánica. En algunos casos se emplean junto a productos alcalinos para aumentar su efectividad, así García et al. (1993) mostraron que la mezcla 0.1N NaOH/Na₄P₂O₇ es la más efectiva en la extracción de sustancias húmicas de turbas.

Finalmente, algunos autores han diseñado extracciones secuenciales para aumentar la efectividad del proceso. Así Schnitzer et al. (1989) superan el 80% de carbono y el 75% de nitrógeno extraído mediante la siguiente secuencia:

1. n-hexano, para extraer alcanos y ácidos grasos.
2. Cloroformo, para ácidos grasos alcoholes de cadena larga y ésteres de ácidos grasos
3. 0.1 M N P2 O7 en atmósfera de N2, para la materia orgánica "complejada" con metales y arcillas
4. 0.5 M NaOH en atmósfera de N2, para la materia orgánica "libre".
5. H2 O, también para la materia orgánica "libre".

5.4.3 Propiedades y características estructurales de sustancias húmicas

Las sustancias húmicas son sustancias orgánicas naturales presentes no solo en suelo sino también en agua y sedimentos, son de máxima importancia en el mantenimiento y desarrollo de las plantas además de controlar el destino medioambiental de contaminantes y la bioquímica de carbón orgánico en el ecosistema global (Piccolo, 1996). A pesar de su roll en el mantenimiento de la vida, la naturaleza básica química y las reactividades de las sustancias húmicas son aun pobremente entendidas. La comunidad científica hasta ahora no ha proporcionado un unificado entendimiento de este campo de la ciencia, y hay aún por consiguiente un pobre conocimiento de aspectos fundamentales de estructuras y reactividades húmicas. A pesar de eso, la implicación de las relevancias de conocimiento de estructura húmica debería extenderse más allá del interés de unos pocos químicos; las estructuras húmicas afectan la manera que el ecosistema del suelo trabaja, así como también la biodisponibilidad de sustancias orgánicas (incluyendo contaminantes potenciales) en el suelo (Tanaka, 2012).

La gran complejidad que presentan las sustancias húmicas, en cuanto a su composición y estructura, ha hecho necesario grandes esfuerzos para conocer dicha composición. Ésta varía dependiendo de su origen, método de extracción y otros parámetros. Sin embargo, las similitudes entre diversas sustancias húmicas son más numerosas que sus diferencias. Dichas analogías son las que han hecho que estos productos sean identificados como un grupo de sustancias. Además, los resultados de las mediciones de las propiedades de las sustancias húmicas suelen ser valores medios debido precisamente a esa heterogeneidad (MacCarthy, 2001). Los análisis elementales de estos compuestos muestran que, en general, el 98- 100% de sus elementos (libres de cenizas) son C, H, O, N , S y P (Tabla 5.5).

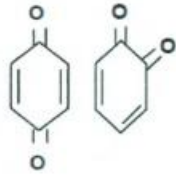
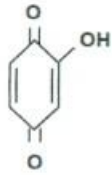
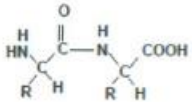
Tabla 5.5 Intervalos usuales para la composición elemental de las sustancias húmicas. (Steelink, 1985).

Elemento	Ácidos Húmicos (%)	Ácidos Fúlvicos (%)
Carbono	53.8-58.7	40.7-50.6
Oxígeno	32.8-38.3	39.7-49.8
Hidrógeno	3.2-6.2	3.8-7.0
Nitrógeno	0.8-4.3	0.9-3.3
Azufre	0.1-1.5	0.1-3.6

Se observa cómo, en general, los ácidos fúlvicos presentan mayores contenidos de oxígeno y menores de carbono. De esa manera las relaciones O/C para los ácidos húmicos presentan un valor aproximado de 0,5 mientras que para ácidos fúlvicos este valor se centra en 0,7 (Steelink, 1985). Este hecho se traduce en un mayor contenido en grupos funcionales oxigenados en los ácidos fúlvicos.

La reactividad de las sustancias húmicas y, por tanto, sus efectos sobre el suelo y las plantas están estrechamente relacionados con el tipo y concentración de grupos funcionales de las mismas. La mayor parte (Tabla 5.6) son de tipo oxigenado: carboxilos, alcoholes, hidroxilos fenólicos y carbonilos.

Tabla 5.6 Grupos funcionales presentes en las sustancias húmicas.

Amino	-NH ₂	Anhidrido	R-CO-O-CO-R'
Amina	R-CH ₂ -NH ₂	Imina	R-CHNH
Amida	R-CO-NH ₂	Imino	=NH
Alcohol	R-CH ₂ -OH	Eter	R-CH ₂ -O-CH ₂ -R'
Aldehído	R-CHO	Ester	R-COOR'
Carboxilo	R-COOH		
		Quinona	
Carboxilato	R-COO ⁻		
Enol	R-CH=CH-OH		
Cetona	R-CO-R'		
		Hidroxiquinona	
Ceto-ácido	R-CO-COOH		
Carbonilo insaturado	-CH=CH-CHO		
		Péptido	

mismas. La mayor parte (Tabla 5.6) son de tipo oxigenado: carboxilos, alcoholes, hidroxilos fenólicos y carbonilos.

Los ácidos fúlvicos contienen un mayor número de grupos funcionales de carácter ácido que los ácidos húmicos (Stevenson, 1994; Schnitzer, 1990), particularmente carboxilos y fenoles (Tabla 5.7).

Tabla 5.7 Distribución de grupos funcionales oxigenados en sustancias húmicas (meq 100 g⁻¹) (Stevenson, 1994).

Grupos Funcionales	Ácidos Húmicos	Ácidos Fúlvicos
Acidez total	560-890	640-1420
COOH	150-570	520-1120
OH Ácidos	210-570	30-570
OH alcohólicos y débilmente ácidos	20-490	260-950
C=O cetónicos y de quinonas	30-140	120-420
OCH ₃	30-80	30-120

La problemática de la definición de una estructura para las sustancias húmicas ha sido afrontada por muchos investigadores desde hace tiempo, los cuáles han propuesto diversos modelos, aunque en muchos casos con poco éxito. Posteriormente, los empleos de modernas técnicas analíticas han proporcionado más información acerca de las complejas estructuras de las sustancias húmicas (Schnitzer, 1990).

Debido a su heterogeneidad y naturaleza polidispersa, la estructura química, así como su arreglo conformacional de las sustancias húmicas es todavía indefinida. La mayoría de los datos obtenidos indican que estos materiales están constituidos, en gran medida, por anillos aromáticos unidos entre sí y a otras estructuras de carácter alifático. Por ejemplo, Visser (1964) primero introdujo el concepto de que la estructura macromolecular de las sustancias húmicas era formada por partículas globulares rígidas con diferentes tamaños, formas y pesos moleculares. Cameron et al. (1974) y Orlov et al. (1995) más tarde atribuyeron al material húmico una naturaleza más flexible y una forma elipsoidal proponiendo una conformación polimérica enrollada. Concurrentemente Schnitzer (1990) sugería que las sustancias húmicas no son solo moléculas sino más bien asociaciones de moléculas de origen natural diferente (Figura 5.15).

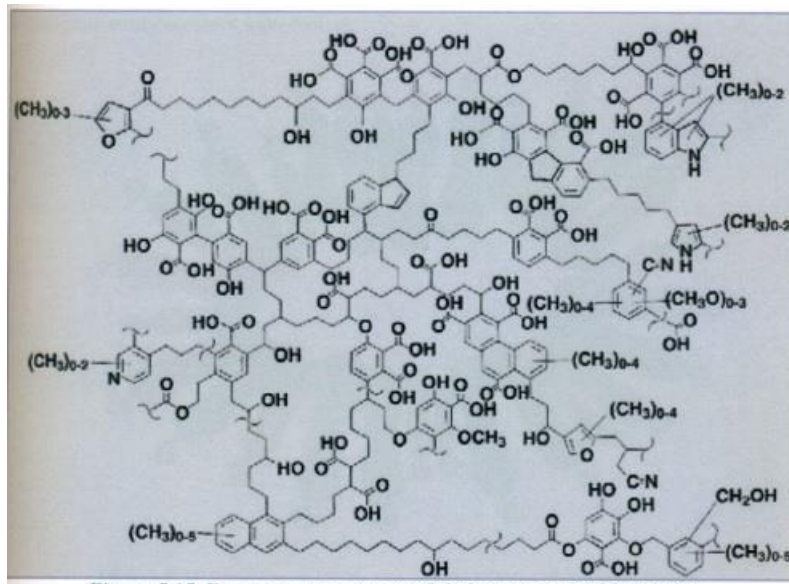


Figura 5.15 Estructura propuesta por Schnitzer para un ácido húmico.

5.4.4 Micelas húmicas

Es generalmente reconocido que los ácidos húmicos tienen actividad superficial y pueden solubilizar a una variedad extensa de especies hidrofóbicas. La visión ampliamente aceptada actualmente es que esto es debido a una organización llamada pseudomicela (parecida a las organizaciones micelares originadas en los surfactantes sintéticos) presentada en los polímeros de los AH en solución acuosa. El concepto fue introducido en una forma fundamental por Rochus y Sipos en 1978 y fue subsecuentemente elaborado y modificado por Wershaw (1993), quien estableció el actual modo de pensamiento del concepto. La esencia de esta teoría es que el anfifilo AH consiste de una porción hidrofóbica elongada con uno o más grupos aniónicos (carboxilatos) unidos al final. Estas entidades se agregan de similar manera que los surfactantes sintéticos formando estructuras micelares o pseudo-membranas (Figura 5.16) y los agregados húmicos son formados por mecanismos de enlaces débiles tales como puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas.

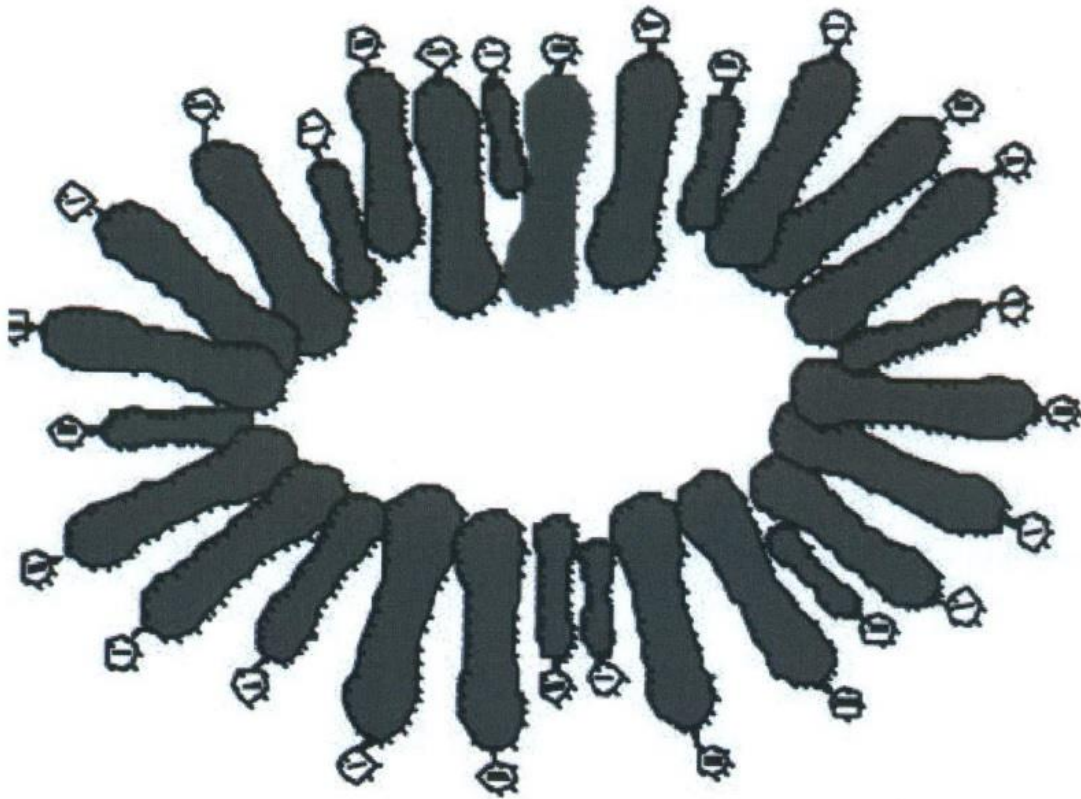


Figura 5.16 Representación de una micela húmica (Wershaw, 1993).

Barak y Chen (1992) han respaldado el modelo micelar en el cual los grupos ionizados hidrofílicos son localizados en la interface de las sustancias húmicas en solución, mientras que las partes hidrofóbicas de la molécula son comúnmente ordenadas por ellas mismas en el interior de la macromolécula. En los trabajos realizados con micelas húmicas, las concentraciones de AH usadas han sido generalmente en rangos de mg mL^{-1} (PPT).

Estas altas concentraciones producen soluciones intensamente coloreadas (café obscuro) que son virtualmente opacas, haciendo la aplicación de muchas técnicas espectroscópicas prácticamente imposibles.

5.4.3.2 *Pseudomicelas*

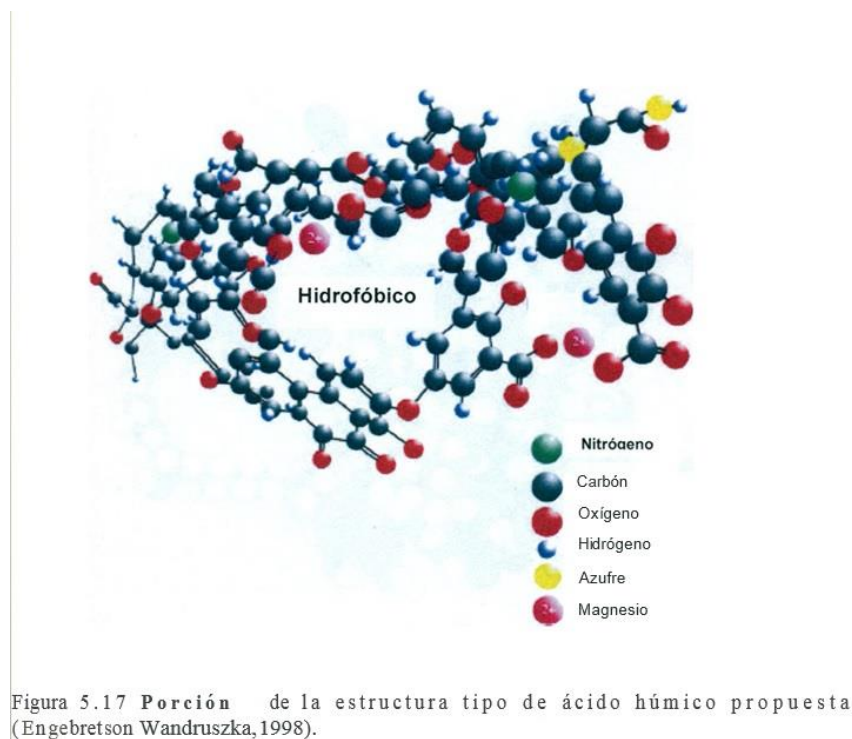
Soluciones acuosas de surfactantes sintéticos tienen concentraciones características conocidas como concentración micelar crítica (CMC), en las cuáles los monómeros espontáneamente se agregan para formar ensambles micelares (Guetzloff et al., 1994).

Lo mismo ha sido reportado para las soluciones concentradas de AH mencionadas anteriormente, las cuales tienen valores estimados de CMC tan altos como de 10 g L⁻¹. Sin embargo, Wandruszka (1998) encontró evidencia de la organización pseudomicelar los cuales no dieron importancia a la CMC. En este modelo, las moléculas anfifílicas de AH son consideradas "agregados" tanto intra como intermolecularmente.

Las extensas cadenas y flexibilidad de los polímeros húmicos, hacen posible esta forma, lo que les permiten plegarse y enrollarse de tal manera que dirigen los grupos hidrofílicos (ejemplo carboxilos, hidroxilos) afuera y mantener los grupos hidrofóbicos (ejemplo hidrocarbonado) aislados en el centro.

Este proceso, el cual en un principio podría ocurrir con una sola ramificación polimérica, produce una entidad que es operacionalmente similar a una micela convencional, aunque más estructuralmente contraída.

Como una micela, esta tiene un interior hidrofóbico y una superficie hidrofílica dando como resultado la solubilización de solutos polares. La porción de una generalizada estructura, la cual puede ser visualizada como un polímero es mostrada en la Figura 5.17.



Evidencia espectroscópica para la existencia de pseudomicelas húmicas han recientemente sido revisadas por Von Wandruszka (1998). Las estructuras son consideradas a existir en todas las concentraciones bajas de AH en soluciones acuosas, aunque ciertas variaciones en composición podrían ser anticipadas. Esto es por ejemplo probable que la agregación intermolecular complementa el enrollamiento intermolecular en la formación de la pseudomicela y que ambos dependen tanto de la concentración como de la polidispersidad del soluto. El ensamble propuesto consiste de un polímero de cadena húmica enrollado con fragmentos más pequeños de AH.

El modelo pseudomicelar propuesto anteriormente su pone además que las cadenas flexibles pueden enrollarse más efectivamente. Soporte de esta evidencia son las representaciones provistas en la modelación de 3D llevadas a cabo por Schulten y Schnitzer usando cálculos semiempíricos y estructuras químicas conocida de AH (Figura 5.18).



Figura 5.18 Modelo 3D de ácido húmico generado por computadora (Schulten, 1997).

Otros estudios de modelación han usado relativamente unidades pequeñas de monómeros, tales como estructuras rígidas (Figura 5.19) para ensamblar polímeros de AH.

Cálculos sobre oligómeros de este tipo sugirieron la formación de una espiral húmica con un grado de inclinación de 8.9 Å y potencialmente grupos funcionales cargados (carboxílicos, fenólicos, amino) distribuidos a lo largo del exterior repitiendo el modelo. El interior de la espiral conteniendo más grupos hidrofóbicos, nuevamente estableciendo pseudomicelas naturales del ensamble.

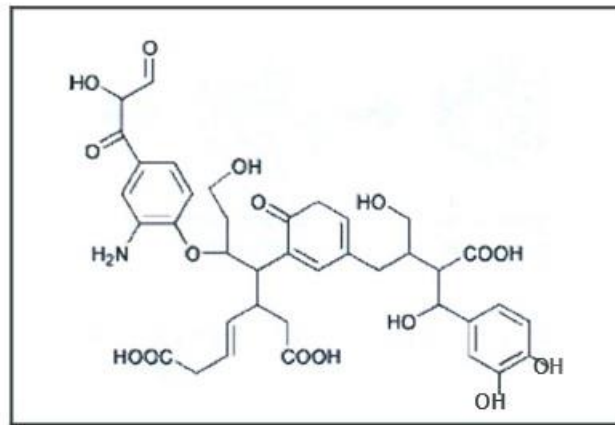


Figura 5.19 Modelo de un monómero de ácido húmico (Wandruzka, 2000).

En recientes años una vista diferente sobre la configuración de AH ha aparecido dando lugar a una menor controversia dentro de este campo. En este modelo concebido por Piccolo et al. (1996), el AH es considerado que no consiste de largas cadenas poliméricas, sino de pequeñas unidades que están juntas retenidas débilmente por fuerzas intermoleculares.

En principio esto parece ser semejante a el modelo asociativo y la idea está implícita en la original sugerencia de Wershaw donde las moléculas de AH se asocian para formar micelas en solución.

5.4.3.3 La influencia de los iones metálicos

Los AH son excelentes ligando para iones metálicos en solución. Aparte de esta importante característica, los metales tienen una mayor influencia sobre el carácter detergente de ácidos húmicos. Investigaciones acerca de este fenómeno fueron sugeridos de la observación que los AH en solución flocculan cuando la fuerza iónica es elevada (Yates et al., 1999).

Esto sugiere la posibilidad que la agregación de polímeros húmicos procede de una forma continua de ensambles pseudomicelares a precipitados macroscópicos cuando la concentración de la sal es incrementada y la fuerza iónica aumenta (Fig. 5.20).

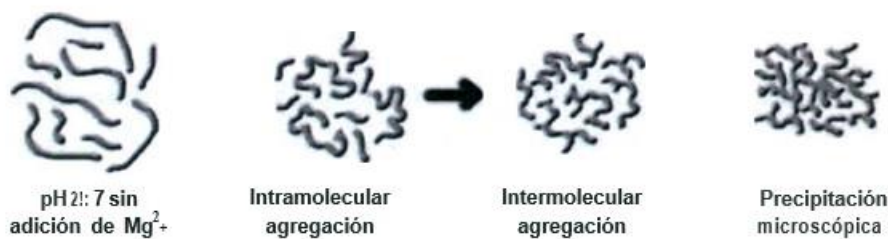


Figura 5.20 Visualización de la agregación de ácido húmico a través de la continua adición de iones metálicos Mg^{2+} .

La evidencia indica que los AH acuosos llegan a incrementar sus propiedades surfactantes en la presencia de sales y que este es completamente predicho sobre la naturaleza del catión. Estudios realizados indican que iones metálicos mono, di y trivalentes son progresivamente más efectivos en aumentar la divergencia de AH en solución (Stevenson, 1994).

5.4.3.4 Efecto del PH

Chn Itzer (1994) demostró por Microscopia de Transmisión electrónica (TEM) que con el incremento del pH o la concentración de las sustancias húmicas, un tejido fino de cadenas alongadas es formada, las cuales entonces se unen dentro de una forma de estructura laminar, perforada de dimensiones variadas, las cuales pueden atrapar o fijar componentes orgánicos e inorgánicos.

Disminuyendo el pH de soluciones acuosas con AH se tiene un efecto similar a la adición de sales metálicas, aunque de una manera menos pronunciada. Al incrementar la concentración de W se produce la prolongación de grupos carboxilos de AH, los cuales eventualmente provocan la precipitación, usualmente entre pHs de 3 a 2, y precipitan completamente a pH de al (Terashima et al., 2004).

5.4.5 Uso y aplicaciones de ácidos húmicos

La propiedad de AH a acomplejar iones metálicos y secuestrar moléculas orgánicas sugiere que este pueda ser usado para remover contaminantes del suelo y agua. Esto ha sido encontrado en varios estudios y es el objeto de una patente por Zanin y Boetti quienes reportaron el uso de AH extraído para la remoción de metales pesados, orgánicos clorados, fósforo y nitrógeno de aguas residuales. Por otro lado, también se ha usado el ácido húmico de la leonardita (AHL) el cuál es un material encontrado en asociación con leonardita, una lignita distribuida en depósitos de Norteamérica (Wandruszka, 2000).

Este material se usa ampliamente en la agricultura como un acondicionador de suelo. Sin embargo, ha sido mostrado que AHL sin refinar puede ser usado para tratamiento de agua y suelo contaminado, ya sea mediante un proceso por lotes o por continuas extracciones en columna (más convenientemente). Metales pesados exitosamente compuestos orgánicos como el piren o hidrofóbico. En la investigación realizada por Cante et al (2005), compararon las cantidades HIPA removidos en suelos mediante el proceso de lavado, empleando dos surfactantes sintéticos llegando a la conclusión que los lavados de suelos llevados a cabo con AHL como biosurfactantes remueven cantidades semejantes de HPA con respecto a los dos surfactantes sintéticos. Obteniendo resultados prometedores del uso de AHL como un biosurfactantes, el cual es competitivo con los surfactantes sintéticos.

Sin embargo, la principal dificultad en usar el AHL para estos propósitos es que su aislamiento de las matrices naturales (suelo) es complicado, lleva mucho tiempo la extracción por lo que es costoso. Por otro lado, al extraer AH del suelo le estamos restando la mayor parte de materia orgánica al suelo (los AH comprenden alrededor del 60 a 80% de la materia orgánica del suelo) empobreciendo su fertilidad y propiedades naturales.

Con la perspectiva anterior, el empleo de ácido húmico generado de las compostas (AHC) surge como una alternativa interesante por evaluar, ya que se pueden tener cantidades importantes de composta y no se requiere ningún tratamiento adicional. El AHC es un material originado por la acelerada degradación microbiana de materia orgánica presente en las compostas, estas tienen características que se asemejan a los AHL del suelo.

Por otro lado, existe un tipo de composta en donde la degradación acelerada de la materia orgánica se lleva a cabo por lombrices en lugar de microorganismos, a la cual se le conoce con el nombre de vermicomposta, en donde se obtiene un producto similar a la composta tradicional.

Sin embargo, al igual que los AH extraídos del suelo, los AH de compostas tienen características particulares dependiendo del origen de la materia orgánica degradada en el proceso de compostaje.

Por ejemplo, en una investigación realizada por Sánchez y Cegarra (2003) donde implementaron el compostaje haciendo uso de diversos residuos orgánicos, como estiércol de pollo, cerdo, bagazo de sorgo, algodón, paja y lodo residual, mostraron que existen grandes diferencias en cuanto a grupos funcionales y tamaños moleculares y esto es dependiente del material utilizado para la formación de la composta.

Actualmente no se ha profundizado en el estudio del empleo de AHC para fines de remediación de suelos contaminados con HPA en el proceso de lavado, y a pesar de que la variedad de grupos funcionales independientemente del AH que este sea, es semejante, éstos difieren en cantidad y tamaño molecular, dando como resultado independientes características detergentes.

El objetivo de nuestro trabajo fue el estudio comparativo del comportamiento surfactante y eficiencia de remoción de HPA en suelo, mediante lavados entre AHs extraídos de compostas- vermicomposta y un surfactante sintético (dodecil sulfato de sodio) comúnmente empleado para este propósito.

Las dos compostas empleadas para el presente estudio fueron conformadas por lodo residual, pasto de corte, corte de maleza o piedra tezontle respectivamente. La composta que contiene corte de maleza fue hecha con el fin de proporcionar un mayor porcentaje de carbono a la pila de compostaje y en el caso de la composta con tezontle el propósito fue aumentar la aireación de la misma, debido a la porosidad de este tipo de piedra. El proceso de compostaje para ambas fue de 3 meses, con aireación mecánica una vez a la semana.

El lodo residual empleado para la formación de las pilas de ambas compostas, fue generado como un subproducto en la planta de tratamiento de aguas Municipales de San Miguel de Allende, Guanajuato, México.

Cabe mencionar, que al inicio del compostaje el lodo residual , superaba los límites máximos permisibles de la norma mexicana para lodos residuales en cuanto a coliformes fecales y al final del proceso se obtuvieron en ambas compostas la reducción de este parámetro , cumpliendo con los límites máximos permisibles de la norma correspondiente , generando de un producto biológico infeccioso , un producto de interés como son las compostas con un alto contenido de materia orgánica, con diferentes cantidades de grupos funcionales y tamaños moleculares , dichas diferencias les confieren características muy particulares e interesantes a investigar (para más detalles consultar Ramírez , 2009). Por otro lado, se empleó también un humus de vermicomposta comercial, estos se venden actualmente como aditivos para fertilizantes con el objetivo de acelerar el desarrollo de las plantas, se hace importante analizar las propiedades de este producto precisamente porque ya se vende comercialmente y si se le encuentra otro uso a parte del ya mencionado sería de gran interés para el fabricante ya que podría expandir su mercado.

CAPITULO VI

DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1 Ácidos húmicos (AH) estudiados

En el presente trabajo se utilizaron tres muestras de ácidos húmicos provenientes de compostas de lodos de plantas de tratamiento y un extracto de humus comercial, preparado a partir de una vermicomposta, de acuerdo a lo siguiente:

Composta (AHCOMPI): Composta estabilizada por 3 meses, conformada por la mezcla de 30% de lodo residual de una planta de tratamiento de aguas municipales, 60% de pasto de corte y 10% de cortes de maleza obtenida de los alrededores del CIDETEQ (ver Figura 6.1a).

Composta (AHCOMP2): Composta estabilizada por 3 meses conformada por la mezcla de 30% del lodo residual generada en una planta de tratamiento de aguas municipales, 60% de pasto de corte y 10% de tezontle el cuál es una piedra porosa de origen volcánico (ver Figura 6.1b).

Humus comercial VERMILIK (AHVCOMP): Es un humus líquido elaborado de vermicomposta y suele aplicarse como mejorador de suelo (ver Figura 6.1c).



Figura 6.1 Origen de los ácidos húmicos en estudio.

6.2 Metodología de extracción para ácidos húmicos

La extracción de los ácidos húmicos para su caracterización fisicoquímica en las compostas (HACOMPI y HACOMP2) se realizó según la metodología propuesta por la Sociedad Internacional de Substancias Húmicas (International Humic Substances Society, IHSS). Este método se basa principalmente de una primera extracción con solución alcalina de donde se obtienen las sustancias húmicas (Humus), para posteriormente fraccionar esta solución en ácidos húmicos y fúlvicos, cambiando a un medio ácido la solución (ver Figura 6.2).

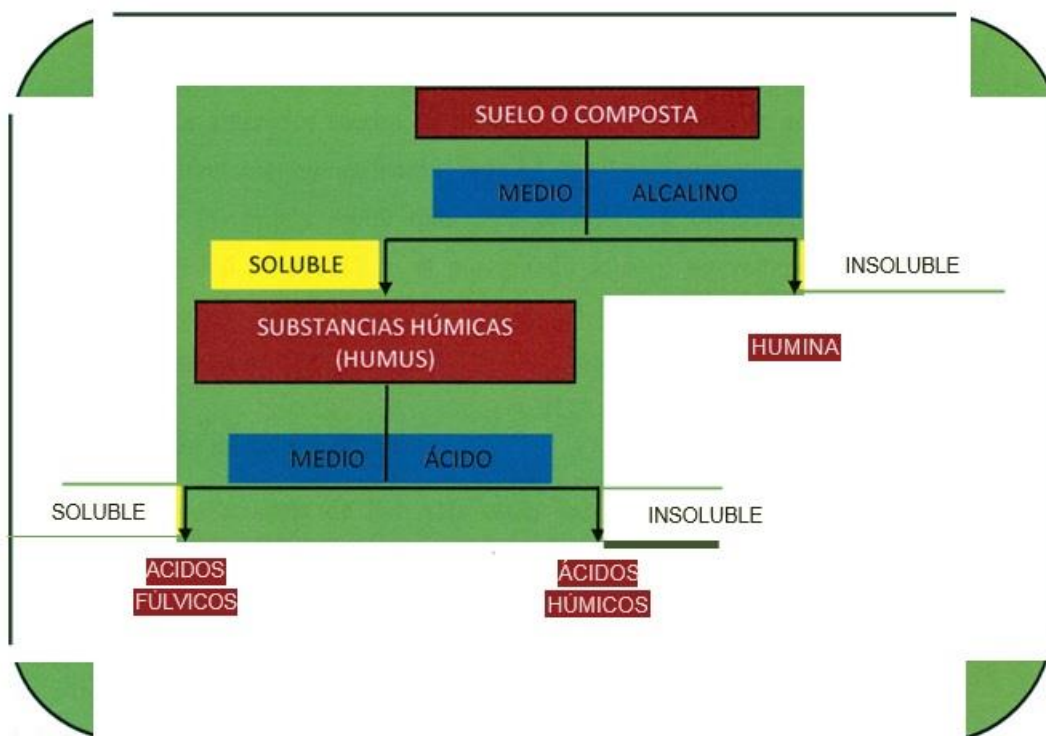


Figura 6.2 Esquema operacional del proceso de extracción de ácidos húmicos de una muestra de suelo o composta.

Para el caso de la extracción del ácido húmico del Humus comercial Vermilik se siguió la misma metodología exceptuando el primer paso que corresponde a la extracción alcalina, puesto que ésta muestra es precisamente el humus extraído alcalinamente de la vermicomposta. Esta metodología se describe más detalladamente a continuación.

De acuerdo al procedimiento anterior, los ácidos húmicos fueron extraídos por agitación (24 h) de 10 g de muestra seca (compostas) tamizada a 2 mm, usando 100 mL de NaOH 0.1 M en botellas selladas. Los extractos obtenidos se centrifugaron durante 20 min a 4,000 rpm, y el sobrenadante fue cuidadosamente separado y pasado a través de un filtro de celulosa de 0.45 μ m. La solución filtrada resultante fue acidificada a pH 2 usando HCl 5 M siendo mantenida a 4 °C durante 24 h; después, se centrifugó la solución por 20 min a 4,000 rpm.

Este paso permitió la separación del AH contenido en el precipitado del ácido fúlvico contenido en el sobrenadante. El precipitado de AH se lava 2 veces con HCl 0.1 M y posteriormente 2 veces más con agua destilada.

Los ácidos húmicos obtenidos fueron purificados re disolviéndolos en una solución de NaOH

0.1 M y manteniéndolos en agitación por 12 h. Posteriormente se lleva a cabo una centrifugación por 20 min a 4,000 rpm y se removi6 el sobrenadante para después ser precipitado con HCl 6 M por 12 h, el precipitado se lav6 nuevamente 2 veces con agua destilada para posterior liofilización y obtención del ácido húmico purificado listo para ser usado en los experimentos.

6.3 Caracterización de ácidos húmicos

Las propiedades surfactantes de los AHs están fuertemente relacionadas con los grupos funcionales y tamaños moleculares, por tal motivo los AHs en estudio fueron caracterizados por espectroscopia FT-IR, acidez total, grupos carboxilos, fenólicos y en términos de relaciones espectrométricas E4/E6 •

6.3.1 Espectroscopia FT-IR

La composición química de los ácidos húmicos fue investigada mediante FT-IR, operando en modo de transmisión (FT-IR espectrofotómetro Perkin Elmer 100 series) formando pastillas con bromuro de potasio (200 mg KBr) conteniendo 1 mg del respectivo ácido húmico seco a estudiar.

6.3.2 Titulaciones ácido-base (grupos funcionales COOH y OH fenólicos)

Los ácidos húmicos poseen numerosos usos debido a sus propiedades, primeramente, intercambio iónico, sorción y propiedades de actividad superficial.

La presencia de grupos ácidos activos en la macromolécula de los ácidos húmicos son los responsables de su pronunciada capacidad de intercambio iónico y complejación con iones metálicos polivalentes y compuestos orgánicos iónicos, los cuales hacen posible su uso como absorbentes en la purificación de aguas residuales y suelos, remover metales pesados y radioactivos, contaminantes del petróleo, etc.

El número de grupos funcionales en la estructura de las macromoléculas de ácidos húmicos es una importante característica que determina su reactividad y propiedades fisicoquímicas.

Las propiedades químicas de los ácidos húmicos son importantes, particularmente aquellas debidas a la presencia de grupos funcionales ácidos porque ellos pueden definir su complejación, plegamiento y propiedades supramoleculares. Los principales grupos y que se encuentran en mayor abundancia son los grupos carboxílicos y fenólicos, aunque existen otros grupos funcionales como amidas, aminas secundarias y terciarias los cuales son mucho menos abundantes y relativamente menos significantes.

Para las titulaciones ácido-base, el grado de acidez o fuerza ácida del coloide (ácido húmico) dependerá de la naturaleza del grupo reactivo y de las estructuras asociadas en la molécula. En general, los grupos OH carboxílicos son disociados más rápidamente que los OH aromáticos o alcoholes alifáticos.

Los compuestos fenólicos son ácidos más fuertes que los alcoholes, pero más débiles que la mayoría de los ácidos carboxílicos. Por lo que, la naturaleza ácida de los ácidos húmicos es usualmente atribuida a la ionización de los grupos COOH y OH fenólicos.

Conocer el inicio de la disociación de estos grupos, es de vital importancia, puesto que de la disociación de los grupos funcionales se pueden desarrollar una serie de fenómenos dando como resultado la modificación de la estructura molecular y propiedades complejantes.

La titulación ácido-base fue realizada mediante mediciones potenciométricas de los AHs en solución (100 mg L⁻¹ NaOH 0.5 M), valoradas con HCl 0.5 M. Las soluciones fueron purgadas con nitrógeno y colocadas en botes sellados. ¡Los valores de pH fueron medidos por un titulador automático inoLab Multi Level (WTW, Weinheim, Germany).

La cuantificación de la acidez total y grupos carboxílicos de los AH fueron llevados a cabo por la medición de titulaciones potenciométricas con hidróxido de bario y acetato de calcio respectivamente, según lo reportado por Perdue (1985). Para lo cual se tomaron 70 mg de AH en un matraz erlenmeyer con 20 mL de Ba(OH)₂ 0.1 M para posterior agitación durante 24 h .

Por otro lado, se coloca en otro matraz erlenmeyer 20 mL de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0.1 M el cual se utiliza como blanco de referencia, una vez concluido el tiempo las soluciones son filtradas (filtros de celulosa 0.45 μm) y el residuo es lavado con un volumen de 10 mL de agua destilada para evitar cambios en el pH de la solución.

Posteriormente, las soluciones son valoradas potencio métricamente con HCl 0.5 M. De tal forma que mediante la diferencia del volumen gastado de HCl para el blanco y para la muestra multiplicada por 1,000 y por la normalidad del HCl y a su vez dividida por la masa del ácido húmico empleado, da como resultado la acidez total expresada en meq g^{-1} .

Para el caso de la determinación de grupos carboxílicos, se llevó a agitación 70 mg de ácido húmico con 10 mL de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$ 0.5 M y 40 mL de agua destilada durante 24 h. Simultáneamente se preparó el blanco de referencia consistiendo en 10 mL de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$ y 40 mL de agua destilada. Todas las soluciones fueron filtradas (filtros de celulosa 0.45 μm), el residuo fue lavado con 10 mL de agua destilada y a continuación valorado potencio métricamente con una solución de NaOH 0.1 M. Al igual que para la determinación de la acidez total, la cuantificación de grupos carboxílicos se lleva a cabo por la diferencia de volúmenes del NaOH gastado para el blanco y para la muestra multiplicada por 1,000 y por la normalidad del NaOH, y a su vez dividido por la masa del ácido húmico en estudio, lo cual nos da como resultado los meq g^{-1} de grupos carboxílicos contenido en el ácido húmico. Por último, el contenido de grupos OH-fenólicos fue calculado como la diferencia entre la acidez total y la cantidad de grupos carboxilos. El contenido ácido-base de los AH es reportado como el promedio de tres independientes titulaciones.

6.3.3 Análisis UV-Vis (E4/E6)

Los espectros de absorción visible de las sustancias húmicas presentan absorbancias que decrecen en intensidad al incrementar la longitud de onda de la radiación (Stevenson, 1994), la mayoría de energía absorbida por materiales húmicos se encuentran entre 300 y 665 nm (Gieguzynska et al., 1998) y ofrecen una información sobre el tamaño molecular y la estructura de las mismas. Los espectros obtenidos pueden ser expresados como una relación o cociente de la absorbancia en dos longitudes de ondas seleccionadas arbitrariamente (ejemplo absorbancias a 465 y 665 nm), llamada relación de color E4/E6 o Q4/Q6.

Esta relación de color es usada como un índice para la proporción de absorción de luz en el rango visible. Una alta proporción de color, 7-8 o más alta, corresponde usualmente a ácidos húmicos de pesos moleculares relativamente pequeños con alto contenido de ramificaciones alifáticas. De lo contrario, una baja proporción de color 3-4, corresponden a ácidos húmicos relacionados con altos pesos moleculares y alto contenido de grupos aromáticos.

Para el estudio de las relaciones espectro métricas E4/E6, se tomaron muestras de AH (3 mg) las cuales fueron disueltas en 10 mL de una solución de NaHCO₃ 0.05 M, los espectros de absorción fueron registrados en la longitud de 200-800 nm usando un espectrofotómetro Hach DR 4000. Las relaciones E4/E6 fueron calculadas como la relación de las absorbancias de las muestras a 465 y a 665 nm.

6.4 Metodología para el estudio de los cambios en las tensiones superficiales de soluciones acuosas de ácidos húmicos a diferentes condiciones.

Soluciones con diferentes concentraciones de AHs fueron preparadas con el propósito de estudiar el carácter surfactante de cada una de ellas, mediante el comportamiento de las tensiones superficiales y determinación de los valores de las concentraciones pseudomicelares críticas (CPMC) de los AHs y la CMC del surfactante sintético. Entre estos experimentos se llevaron a cabo también cambios de pH en las soluciones y adición de iones metálicos, para observar si los ácidos húmicos, tanto de composta como de vermicomposta en estas condiciones aumentan o disminuyen su carácter detergente de manera similar a los AHLs.

Todas las mediciones de la TS fueron realizadas usando la metodología del Anillo de Du-Noy, empleando un Tensiómetro de laboratorio (Cole Palmer, USA). Después de cada medición, el anillo de platino fue lavado y limpiado con acetona (J.T. Baker, México); también fue expuesto a flama con el fin de eliminar la presencia de cualquier material orgánico sobre la superficie ya que una contribución de ésta produciría errores en los resultados. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo a 25 ± 0.2 °C y los resultados reportados son un promedio de 3 mediciones.

6.4.1 Concentración pseudomicelar crítica de ácidos húmicos

Las determinaciones de los valores de la CPMC de ácidos húmicos fueron llevadas a cabo, mediante soluciones de diferentes concentraciones de AH solubilizadas en NaOH 0.1 M que van en el rango de 2,000 a 4,800 mg L⁻¹, ajustando el pH de la solución a pH 11.8 usando HCl 0.1 M, para después someterlos a agitación por 4 h. Posteriormente las soluciones fueron filtradas empleando membranas de celulosa de 0.45 µm, dejándolas reposar 12 h antes de ser analizadas. Se trazaron las concentraciones de AH contra los valores obtenidos de TS con el fin de identificar las CPMC, las cuales fueron calculadas como el punto de inflexión de la curva cuando la TS fuese constante.

6.4.2 Determinación de tensiones superficiales a diferentes condiciones de Ph

Como se ha explicado anteriormente en este trabajo la tensión superficial de las soluciones acuosas de los AHs es un parámetro con mucha relevancia para todos los tipos de agregaciones de estas sustancias. Sin embargo, pocos reportes se han registrado en la literatura. Se ha demostrado que la tensión superficial decrece con incremento en la concentración del AH, pero resultados contradictorios se han presentado en la dependencia de la tensión superficial sobre el pH. Una de las dificultades encontradas en tales mediciones envuelve los rangos de concentración considerados. Los resultados pueden variar significativamente entre soluciones de AHs con concentraciones de rangos en g L^{-1} (Guetzloff y Rice, 1996) y rangos de mg L^{-1} .

Como consecuencia de los cambios en las tensiones superficiales con respecto al pH, las estructuras y tamaños moleculares de los AHs en solución se ven modificadas, pudiendo reducir o eficientizar el carácter detergente, de tal forma que con el objetivo de evaluar el efecto del pH sobre la TS de los AHs en estudio, soluciones con 100 mg L^{-1} de AH disueltos en NaOH 0.1 M fueron ajustadas a valores de pH entre 7 y 2 con HCl 0.1 M, para después medir la TS de las soluciones de AHs.

6.4.3 Identificación de cambios en las tensiones superficiales con la adición de Ca^{2+} y Fe^{3+}

La incorporación de iones metálicos en soluciones de AHs tiene una mayor preponderancia en cuanto a la eficientización del carácter detergente, en comparación con el cambio del medio de pH. Esto debido a la facilidad de los AHs de enlazar iones metálicos, ocurriendo modificaciones estructurales (enrollamiento y plegamiento de la molécula) en el AH provocando a su vez cambios en las tensiones superficiales.

Con el fin de observar estos cambios, muestras fueron preparadas por la adición de apropiadas cantidades de sales de Ca^{2+} o Fe^{3+} a soluciones de los diferentes AH previamente solubilizados en NaOH 0.1 M y ajustadas a PH con HCl 0.1 M, para obtener al final concentraciones de AH de 100 mg l⁻¹ y un rango de concentración de sales entre 1×10^{-5} y 1×10^{-2} M en las soluciones. Las muestras fueron agitadas por 24 h y dejadas reposar por 2 h antes de su análisis.

6.5 Rearreglos moleculares de ácidos húmicos en soluciones estudiados por cromatografía de exclusión molecular.

Los cambios de tamaño molecular de ácidos húmicos bajo estudio fueron analizados usando un equipo HPLC (Agilent 1260 Infinity series) con un detector DAD (rango de longitud de onda 254-600 nm). Las especificaciones de inyección y funcionamiento se muestran en la

Tabla 6.1.

Tabla 6.1 Especificaciones cromatográficas para separación por tamaño molecular de ácidos húmicos.

Especificaciones de separación cromatográfica	
Columna	Polymer Standard Service, 8 x 300 mm
Fase móvil	0.001 M de NaOH a pH 10.3
Flujo	0.8 mL min ⁻¹
Volumen de inyección	100 µL
Especificaciones de detección	
Rango de longitud de onda	254-600 nm
Ácidos húmicos	254 nm

6.5.2 Rearreglos moleculares de ácidos húmicos con adición de cationes

Este estudio se llevó a cabo para observar si existen cambios moleculares en los ácidos húmicos cuando hay presencia de cationes (Ca^{2+} y Fe^{3+}) en solución, de tal manera que podamos analizar si existe alguna relación entre los cambios de TS y CTM de ácidos húmicos en presencia de estos.

Las soluciones a pH 6 de AH (100 mg L^{-1}) conteniendo diferentes concentraciones de Ca^{2+} y Fe^{3+} (entre 1×10^{-5} y $1 \times 10^{-2} \text{ M}$) fueron preparadas de forma similar como en el punto 6.4.3. Posteriormente fueron analizadas en el equipo HPLC para notar los posibles CTM en AH.

6.6 Modelación de molécula húmica

Con el propósito de observar los cambios ocurridos en la estructura molecular del ácido húmico propuesto, se realizó un modelado de la molécula en diferentes condiciones de pH para lo cual se utilizó el Software: Gaussian 09 para plataforma Linux, que corre en 8 procesadores en paralelo a través del servidor de la Universidad Autónoma Metropolitana vía remota. Los cálculos son realizados de manera simultánea y sucesiva con los requerimientos necesarios para poder ejecutar el programa, como son memoria (2GB) por proceso y por cálculo.

La realización de los cálculos químico-cuánticos en el presente trabajo consideró cinco etapas concretas que, de manera simple, se resumen a continuación: a) Delimitación del problema, b) Generación de archivos de entrada, e) Envío de los cálculos, d) Análisis de los archivos de salida, e) Resultados finales.

a) Delimitación del problema: Se escogió un modelo representativo para el ácido húmico, reportado en Wandruzka (2000), este fue seleccionado como molécula modelo del estudio en cuestión y de ésta se consideraron las diferentes especies dependiendo del pH que se quería simular de acuerdo al medio de trabajo, llamada a pH ácido, molécula totalmente protonada (AH-Allport). La primera especie formada a un pH ácido fue nombrada como molécula AH totalmente protonada (AH-All prot), la segunda especie fue nombrada AH-Deprotonada en los carboxilos, donde el grupo amino estaba protonado y los grupos carboxílicos deprotonados a un pH <7 . La tercera especie corresponde a la molécula nombrada totalmente deprotonada, tanto en los grupos carboxilos como en el grupo amino, esta especie predomina principalmente a un pH básico. Inicialmente se optimizaron las geometrías y se estableció la geometría más probable para todas las moléculas utilizando el método semi-empírico PM6. Todos los cálculos fueron realizados utilizando el Gaussian 09 y el objetivo principal es el de obtener la estructura más estable geométrica y energética, esto es, geometrías mínimas en donde todas las frecuencias vibracionales asociadas a la especie son positivas.

- b) Generación de archivos de entrada:** Utilizando Gaussview, interface gráfica de Gaussian, se construye la molécula. Estas geometrías son preliminares. Estos archivos son nombrados con extensiones*.com para que sean reconocidos en plataforma LINUX, ya que el cálculo se realizó en el clúster mencionado utilizando 8 procesadores por molécula y por optimización geométrica, además del cálculo de las frecuencias.
- c) Envío de los cálculos:** En esta etapa se requiere hacer un enlace remoto al centro de cómputo en donde se ejecuta el programa para lo cual se requiere una instrucción. El enlace requiere abrir una cuenta en donde se proporciona Username y Password. Esto solamente es posible cuando se hace una petición por la institución ejecutante y hacia el centro de administración (UAM-Iztapalapa, AITZALOA que es el nombre de la supercomputadora). Los cálculos enviados fueron de optimización geométrica y de frecuencias. Las instrucciones en el comando de ejecución son opt y freq.
- d) Análisis de los archivos de salida:** Fragmento de cálculo de optimización geométrica de la salida del programa Gaussian. El criterio en este proceso de optimización se ve en la columna que dice Threshold y la convergencia en el Converged el cual en al menos dos de ellos debe escribir la palabra "YES" (Tabla 6.2).

En el cálculo de optimización geométrica para la obtención de las diferentes conformaciones de la molécula se realiza el movimiento de todos los núcleos y con ellos sus electrones de la molécula en estudio, este cálculo en donde lo que se obtiene es una energía asociada a cada conformación se obtiene clásicamente mediante el empleo de la ecuación de Newton. Entonces la energía total del sistema está relacionada con la suma de la energía cinética y la energía potencial de cada átomo. En el caso de la energía cinética, es la energía referida a los núcleos como especies no interactuantes, mientras la energía potencial está referida al término s atractivos y repulsivos entre los diferentes átomos.

Cuando la interacción entre átomos es mayor que la repulsión entonces se forma el enlace. Estas energías potenciales dependen de la naturaleza de cada uno de los átomos, la cual está tomada en cuenta en la librería propia del programa. Sin embargo, este tipo de aproximación no toma en cuenta las contribuciones de la parte vibraciones de los núcleos y electrónica como es el movimiento translacional, electrónico, rotacional y vibracional del movimiento. Para tomar estos efectos se hace mediante la mecánica cuántica y la termodinámica molecular en donde se calcula la energía, la entropía y la capacidad calorífica proveniente del movimiento translacional, electrónico, rotacional y vibracional del movimiento, así como también la energía libre de Gibbs, esto es aplicable a las moléculas o bien para una reacción química. Las ecuaciones que se utilizan en este programa son las mismas que se encuentran en los libros de texto que tratan sobre termodinámica y parte de la función de partición $g(V, T)$ para calcular las funciones de estado. Para más detalles ver en la web la "Thermochemistry in Gaussian".

La instrucción en el input es realizar un cálculo de frecuencia. Con esto se corrige los errores a la energía conocido como corrección ZPE (Zero Point Energy correction), además del parámetro s termodinámico s. Como se ejemplifica en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2 Fragmento de cálculo vibracional y de termoquímica con el programa Gaussian 09.

```

D88      2.09433  0.00000  0.00000  -0.00051  -0.00051  2.09382
D89      3.13912  0.00000  0.00000  -0.00043  -0.00043  3.13869
D90      1.04192  0.00000  0.00000  -0.00044  -0.00044  1.04148
D91     -1.04698  0.00000  0.00000  -0.00044  -0.00044  -1.04742

Item              Value      Threshold  Converged?
Maximum Force    0.000017   0.000450   YES
RMS Force        0.000002   0.000300   YES
Maximum Displacement 0.001161   0.001800   YES
RMS Displacement 0.000189   0.001200   YES
Predicted change in Energy=-2.458177D-09
Optimization completed.
-- Stationary point found.

```

```

-----
!              Optimized Parameters              !
!              (Angstroms and Degrees)          !
-----
! Name  Definition              Value      Derivative Info.
-----
! R1    R(1,2)                   1.289      -DE/DX = 0.0
! R2    R(1,27)                  1.4122     -DE/DX = 0.0
! R3    R(2,3)                   1.3623     -DE/DX = 0.0
! R4    R(3,4)                   1.4422     -DE/DX = 0.0
! R5    R(3,5)                   1.413      -DE/DX = 0.0
! R6    R(4,7)                   1.3192     -DE/DX = 0.0
! R7    R(4,10)                  1.5409     -DE/DX = 0.0
! R8    R(5,6)                   1.348      -DE/DX = 0.0

```

Harmonic frequencies (cm⁻¹), IR intensities (KM/Mole), Raman scattering activities (A⁴/AMU), Raman depolarization ratios, reduced masses (AMU), force constants (mDyne/A) and normal coordinates:

	1			2			3			
	A'			A'			A'			
Frequencies	--	1602.8186			3816.4535			3921.7160		
Red. masses	--	1.0829			1.0449			1.0824		
Frc const	--	1.6391			8.9674			9.8083		
IR Inten	--	66.7805			9.2880			56.6789		
Raman Activ	--	0.0000			0.0000			0.0000		
Depolar	--	0.0000			0.0000			0.0000		
ATOM AN		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
1 8		0.00	0.07	0.00	0.00	0.05	0.00	0.07	0.00	0.00
2 1		-0.43	-0.56	0.00	0.59	-0.40	0.00	-0.56	0.43	0.00
3 1		0.43	-0.56	0.00	-0.58	-0.39	0.00	-0.56	-0.43	0.00

- Thermochemistry -

Temperature 298.150 kelvin. Pressure 1.00000 Atm.

Atom 1 has atomic number 8 and mass 15.99491

Atom 2 has atomic number 1 and mass 1.00783

Atom 3 has atomic number 1 and mass 1.00783

Molecular mass: 18.01056 amu.

Principal axes and moments of inertia in atomic units:

	1	2	3
EIGENVALUES --	2.19005	4.19706	6.38712
X	1.00000	0.00013	0.00000
Y	-0.00013	1.00000	0.00000
Z	0.00000	0.00000	1.00000

THIS MOLECULE IS AN ASYMMETRIC TOP.

ROTATIONAL SYMMETRY NUMBER 1.

ROTATIONAL TEMPERATURES (KELVIN) 39.54856 20.63666 13.56064

ROTATIONAL CONSTANTS (GHZ) 824.06297 430.00078 282.55957

Zero-point vibrational energy 55871.5 (Joules/Mol)

13.35361 (kcal/Mol)

VIBRATIONAL TEMPERATURES: 2306.09 5490.99 5642.44 (KELVIN)

Zero-point correction=

Thermal correction to Energy=	0.021280 (Hartree/Particle)
Thermal correction to Enthalpy=	0.024116
Thermal correction to Gibbs Free Energy=	0.025060
Sum of electronic and zero-point Energies=	0.002983
Sum of electronic and thermal Energies=	-76.437250
Sum of electronic and thermal Enthalpies=	-76.434415
Sum of electronic and thermal Free Energies=	-76.433471
	-76.455548

ZPE
ΔE (thermal Corr)
ΔH (enthalpia)
ΔG (Gibbs)

	E (Thermal) KCAL/MOL	CV CAL/MOL-KELVIN	S CAL/MOL-KELVIN
TOTAL	15.133	6.014	46.466
ELECTRONIC	0.000	0.000	0.000
TRANSLATIONAL	0.889	2.981	34.609
ROTATIONAL	0.889	2.981	11.850
VIBRATIONAL	13.356	0.052	0.008
	Q	LOG10(Q)	LN(Q)
TOTAL BOT	0.424554D-01	-1.372067	-3.159301
TOTAL V=0	0.260701D+09	8.416143	19.378886
VIB (BOT)	0.162922D-09	-9.788020	-22.537749
VIB (V=0)	0.100044D+01	0.000190	0.000438
ELECTRONIC	0.100000D+01	0.000000	0.000000
TRANSLATIONAL	0.300436D+07	6.477751	14.915574
ROTATIONAL	0.867365D+02	1.938202	4.462875

e) Resultados finales:

Una vez que se realiza el análisis de resultados, se generan tablas y figuras y se discute en base a los resultados obtenidos, principalmente tamaño y forma, distribución orbital (HOMO- LUMO) y distribución de la isosuperficie de densidad electrónica.

6.7 Lavado de suelo contaminado mediante soluciones de ácidos húmicos a diferentes concentraciones

Con el objetivo de evaluar la remoción de poliaromáticos en suelo empleando soluciones de ácidos húmicos, se propuso la contaminación sintética del suelo usando estándares de poliaromáticos. Los estándares utilizados fueron naftaleno (pureza del 99.9%), antraceno (pureza del 99.9%) y pireno (pureza del 96.6) adquiridos de la compañía química Sigma- Aidrich. La contaminación sintética del suelo se realizó de acuerdo a la metodología de Roy et al. 1997 en donde los poliaromáticos son solubilizados en acetonitrilo grado HPLC (Sigma-Aidrich) en cantidades necesarias para obtener soluciones stock de 2,000 mg L⁻¹ de cada una de ellos. Posteriormente se toman 2 mL de cada solución conteniendo al respectivo poliaromático y se adiciona a 10 g de suelo seco dejando evaporar el acetonitrilo por 24 h. Al final se obtiene un suelo contaminado con 400 mg de cada poliaromático por kg de suelo (400 mg naftaleno/kg suelo, 400 mg antraceno/kg suelo y 400 mg pireno/kg suelo). Estas muestras son selladas, cubiertas de la radiación solar y dejadas reposar durante 7 días a temperatura de laboratorio antes de ser empleadas.

6.7.1 Lavado de suelo contaminado con naftaleno, antraceno y pireno mediante soluciones de ácidos húmicos a diferentes concentraciones y medios de PH

Para poder analizar el efecto que tiene la concentración de los AH en estudio con respecto al porcentaje de remoción de los poliaromáticos presentes en suelo, se procedió al lavado de 10 g de suelo contaminado (400 mg de cada poli aromático /kg de suelo) usando como agua de lavado 40 mL de AH a diferentes concentraciones (2,000 mg L⁻¹, 2,350 mg L⁻¹, 3,000 mg L⁻¹ y 4,800 mg L⁻¹), previamente solubilizados en NaOH 0.1 M y ajustados a pH 7 y 4 con HCl 0.1

Cada solución de lavado se adiciono al suelo y se mantuvo en agitación por 24 h.

Una vez finalizado el tiempo de agitación, las mezclas de suelo con solución de lavado fueron centrifugadas a 4,000 rpm por 15 min, obteniendo al final un precipitado (suelo lavado) el cual se secó a 50 °C por 48 h. Posteriormente se tomaron 7 g de suelo seco lavado y se introdujeron en capsulas de papel filtro de 1 Jlm, siendo colocadas después en equipo soxhlet durante 4 h utilizando como extractante 80 mL de hexano grado reactivo (Compañía química J.T. Baker) como se indica en la Figura 6.3.

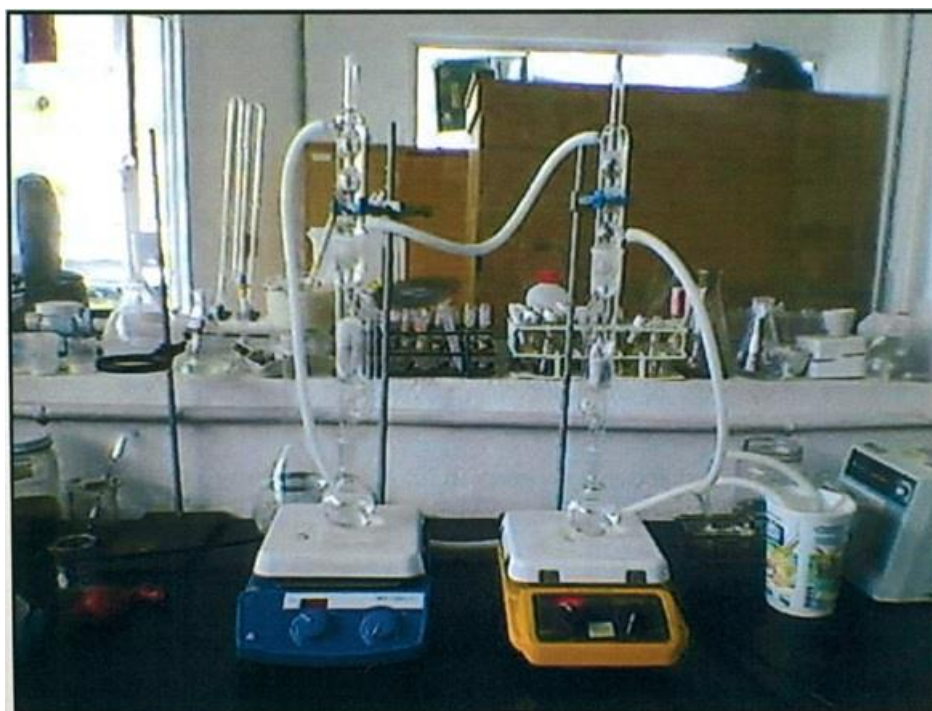


Figura 6.3 Equipo soxhlet empleado para extracción de poliaromáticos en suelo lavado.

Después de haber transcurrido el tiempo de extracción, el hexano se recupera mediante evaporación, quedando únicamente en el interior de los matraces balón los poliaromáticos extraídos del suelo lavado. Los poliaromáticos son nuevamente solubilizados con 20 mL de acetonitrilo y analizados en un equipo HPLC (Agilent 1260 Infinity series) equipado con un detector DAD (rango de longitud de onda 254-600 nm) con el fin de determinar el contenido de poliaromáticos presentes en suelo después del lavado obteniendo por diferencia de este y la concentración inicial de contaminante en suelo, el porcentaje de poli aromático lavado correspondiente a cada concentración de AH. El método y parámetros del funcionamiento del equipo HPLC se muestran en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3 Especificaciones cromatográficas para detección de poliaromáticos en lavado de suelo.

Especificaciones de separación cromatográfica	
Columna	Eclipse PAH 3.5 11m, 4.6 x 150 mm
Fase móvil	Acetonitrilo 60 % y Agua 40%
Flujo	0.8 mL min ⁻¹
Volumen de inyección	25 1-1L

Especificaciones de detección	
Rango de longitud de onda	254-600 nm
Naftaleno	260 nm
Antraceno	254 nm
Pireno	260 nm

Cabe mencionar, que para determinar las concentraciones de poliaromáticos mediante el equipo HPLC, fueron realizadas previamente curvas de calibración para cada contaminante, solubilizando los estándares de poliaromáticos en acetonitrilo obteniendo curvas de calibración que van desde 0 hasta 150 mg L⁻¹ del poliaromático respectivo.

CAPITULO VII

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de los ácidos húmicos y de la evaluación de sus propiedades surfactantes para poder relacionarlas con su comportamiento a diferentes condiciones de pH y en presencia de cationes. Asimismo, se muestran resultados de la prueba de Cromatografía de Exclusión Molecular (CEM) que permite visualizar cambios en la estructura supramolecular de las moléculas de ácidos húmicos y cómo estos cambios se relacionan con su acción surfactante. Adicionalmente se realizó un modelado de la molécula en diferentes condiciones de pH que muestran como la conformación de la molécula puede cambiar, tal como lo muestran las pruebas de CEM. Finalmente, se realizaron pruebas de lavado de suelo contaminado con HPA con el fin de comprobar el funcionamiento de los ácidos húmicos de los diferentes orígenes.

7.1 Obtención de las muestras de ácidos húmicos

En la Figura 7.1 se muestra esquemáticamente el procedimiento que se siguió para la obtención de los diferentes AHs de las muestras de las compostas. En la Figura 7.1a se puede observar el extracto de sustancias húmicas obtenido con la adición de NaOH 0.1 M. Para separar los ácidos húmicos y fúlvicos se ajustó la solución a un pH de 2 utilizando HCl 5 M, de manera que se formaron las dos fases correspondientes, un precipitado de color oscuro conteniendo los ácidos húmicos (Figura 7.1b) y un sobrenadante que contiene los ácidos fúlvicos que toma un color amarillo (Figura 7.1c). Finalmente, la muestra de ácido húmico fraccionado el cual sometió a un proceso de liofilización para obtenerlos en forma de polvo (Figura 7.1d y 7.1e).

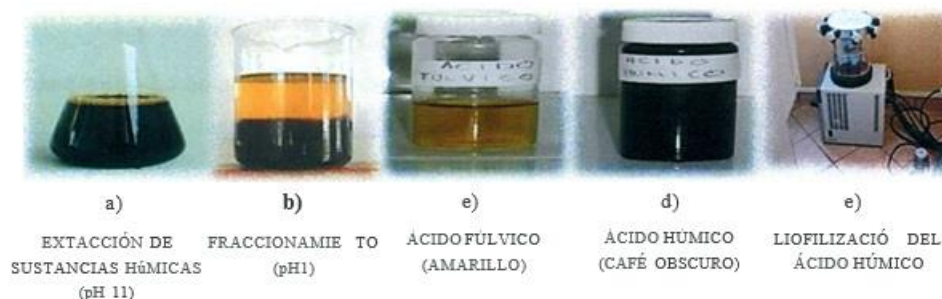


Figura 7.1 Proceso de extracción de ácidos húmicos.

En el caso de los ácidos húmicos obtenidos de la vermicomposta el proceso que se llevó a cabo fue solamente el de liofilización, ya que la muestra que se tenía era humus líquido que ya había sido extraída de la vermicomposta.

En la Figura 7.2 se observan los ácidos húmicos al final del proceso de obtención, mostrando en todos los casos un color café oscuro característico de una muestra de suelo.



Figura 7.2 Muestras de ácidos húmicos obtenidos a partir de las compostas de lodos de planta de tratamiento y de la muestra de vermicomposta. AHCOMP1 (composta de lodo-pasto-maleza); AHCOMP2 (composta de lodo-pasto-tezontle); AHVCOMP (humus de vermicomposta).

7.2 Grupos funcionales mediante espectroscopia FT-IR

En la Figura 7.3 se muestran los espectros FT-IR generados por los AHs en estudio con el propósito de analizar si los AHs de compostas AHVCOMP, HACOMP1 y HACOMP2 contienen grupos funcionales semejantes a los de AHs presentes en suelo, los cuales podrían proporcionar las características surfactantes a la molécula. Para las tres muestras de composta en estudio se identificaron los picos típicos de AHs de suelo reportados en diversas investigaciones (Francioso et al., 2002; Senesi et al., 1996; Stevenson, 1994).

En todos los casos se observó una pronunciada banda de absorción entre 3,200 - 3,400 cm^{-1} (vibraciones de O-H de grupos carboxílicos y grupos alcohólicos así como vibraciones de enlaces N-H) al igual que una banda en 1,720-1,734 cm^{-1} (vibraciones de enlaces C=O de COOH y cetonas). Asimismo se observa una señal entre 1600-1,625 cm^{-1} (C=C aromáticos, H-enlazados fuertemente a C=O de cetonas), un pico entre los 1,510-1,516 cm^{-1} (vibraciones C=C de aromáticos, N-H deformación de amidas II), una banda en 1,430-1,460 cm^{-1} (alifáticos C-H), un pico a 1,250-1,280 cm^{-1} (vibraciones de enlaces C-O y deformación OH de COOH) y una señal a 800-1,150 cm^{-1} (vibraciones de enlaces C-O de polisacáridos o sustancias similares a polisacáridos).

De acuerdo a los espectros FT-IR obtenidos, los que corresponden a la composta de los lodos de planta de tratamiento AHCOMP1 y AHCOMP2 mostraron picos similares y más intensos entre 1430-1460 cm^{-1} los cuales son asignables a estructuras alifáticas.

Las bandas entre 1,720-1,734 cm^{-1} , 1,600-1,625 cm^{-1} and 1,510-1,516 cm^{-1} fueron más pronunciadas para el HAVCOMP indicando un mayor contenido de grupos C=O, C=C aromáticos y COOH.

Con base a todo lo anterior se observa que los AHs de AHCOMP1, HACOMP2 y AHVCOMP tienen grupos funcionales similares a los extraídos en diferentes tipos de suelo, conteniendo en su estructura tanto grupos hidrofóbicos como hidrofílicos, lo cual es un indicativo de que las moléculas de ácidos húmicos pudieran tener propiedades surfactantes. Asimismo, se observa que las muestras AHCOMP1 y AHCOMP2 tienen un mayor contenido de grupos alifáticos en comparación con el AHVCOMP que muestra mayor presencia de grupos aromáticos.

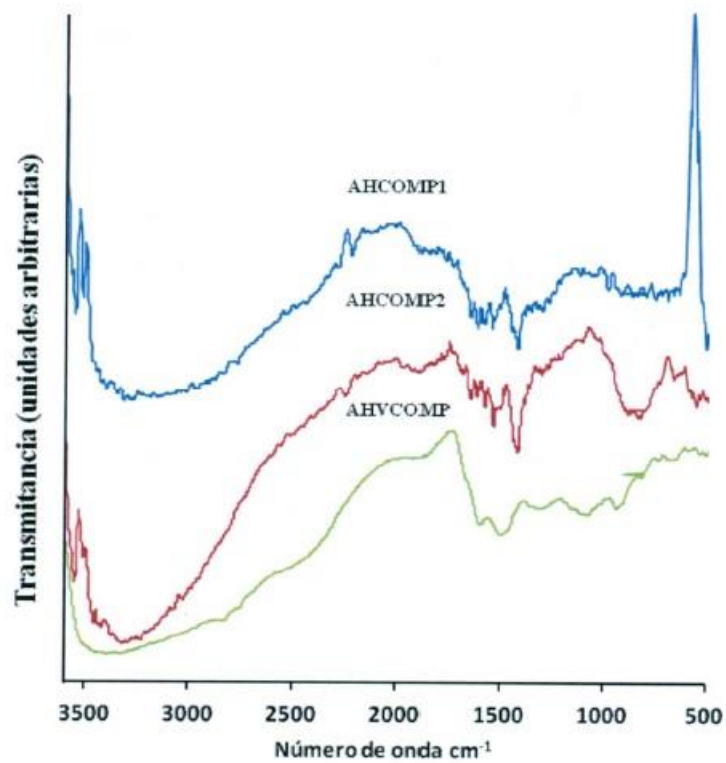


Figura 7.3 FT-IR de ácidos húmicos AHVCOMP (humus de vermicomposta); AHCOMP1 (composta de lodo-pasto-maleza); AHCOMP2 (composta de lodo-pasto-tezontle).

7.3 Titulaciones ácido base

La Figura 7.4 muestra la titulación directa de los ácidos húmicos con HCl 0.1 M. De forma general podemos notar que a pH 12 los grupos ácidos presentes en los materiales húmicos se encuentran totalmente disociados. Sin embargo, después de alcanzar un pH 10 comienza un decrecimiento marcado en el pH hasta un valor de pH de 2.5 en donde la curva de titulación permanece constante.

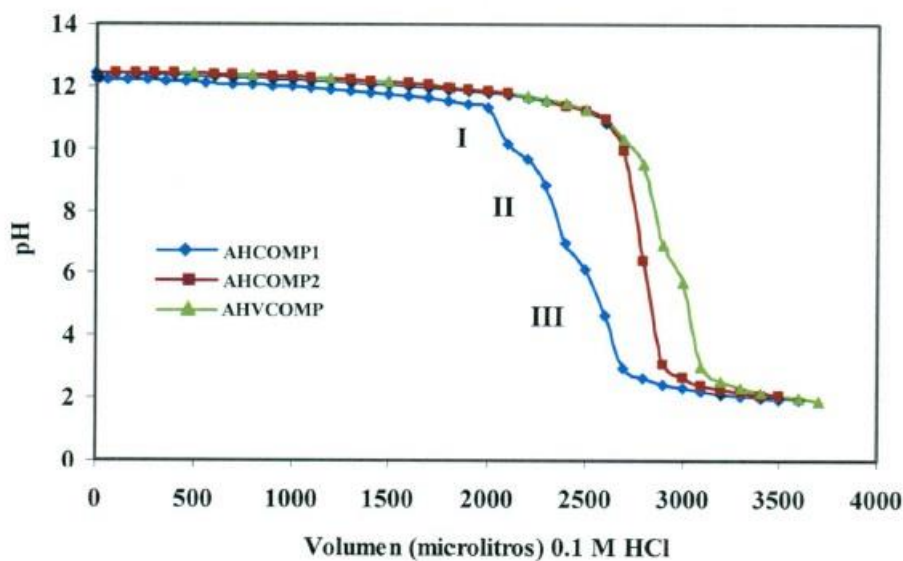


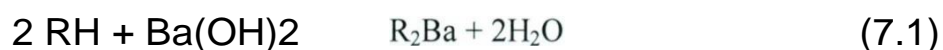
Figura 7.4 Curvas de titulación potenciométrica de ácidos húmicos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, en la curva correspondiente a la muestra AHCOMP1 se pueden ver dos puntos de equivalencia a pH alrededor de 5 y otro a un pH cercano a 8, lo que coincide con los valores obtenidos anteriormente por Tanaka (20 12). El primer punto se relaciona con la neutralización de grupos carboxilos en tanto que el segundo está asociado con la neutralización de grupos OH. Adicionalmente, Khil' ko et al. (20 11) reportan que a pH de 7 y de 10.5 se consideran los puntos finales de la titulación de los grupos carboxilos y grupos ácidos, los cuales son muy similares a los puntos finales de la titulación para la muestra AHCOMP1.

En la curva correspondiente a AHVCOMP muestra los mismos puntos de equivalencia que la muestra de ácidos húmicos proveniente de AHCOMP2, de manera que se puede observar de manera clara la señal correspondiente a la neutralización de COOH y grupos OH. En el caso de la muestra AHCOMP 1 no se puede hacer la distinción de ambas señales. Una de las razones por la que pueden no estar bien definidos los puntos de equivalencia es porque los ácidos húmicos pueden tener varios grupos ácidos (los más importantes son los grupos OH y los grupos COOH) que se pueden estar disociando de manera simultánea. Stevenson (1994) menciona que la curva de titulación puede dividirse en tres zonas: la zona más ácida donde se disocian los grupos COOH, la zona a pH neutro-alcalino donde se presenta la disociación de los grupos OH y una zona intermedia donde la ionización de los grupos ácidos débiles (COOH) y ácidos muy débiles (OH fenólico) se traslapan.

7.4 Cuantificación de acidez total y grupos funcionales ácidos (COOH-OH)

Las curvas de titulación generadas por los ácidos húmicos para la cuantificación de la acidez total (acidez de grupos COOH + OH fenólicos) se realizó determinando el exceso de Ba(OH)₂ que queda después de reaccionar con los ácidos húmicos, de acuerdo a la reacción (Stevenson, 1994):



Como se observa en la Figura 7.5 la curva de titulación originada por la muestra AHCOMPI, es la que más rápidamente presenta cambios en pH con respecto al volumen del reactivo titulante, indicando que existe un contenido de acidez total mayor en comparación con AHVCOMP y AHCOMP2. El material con menor acidez total es este último ya que tiene una cantidad residual de Ba(OH)₂ mayor en comparación con las otras dos muestras.

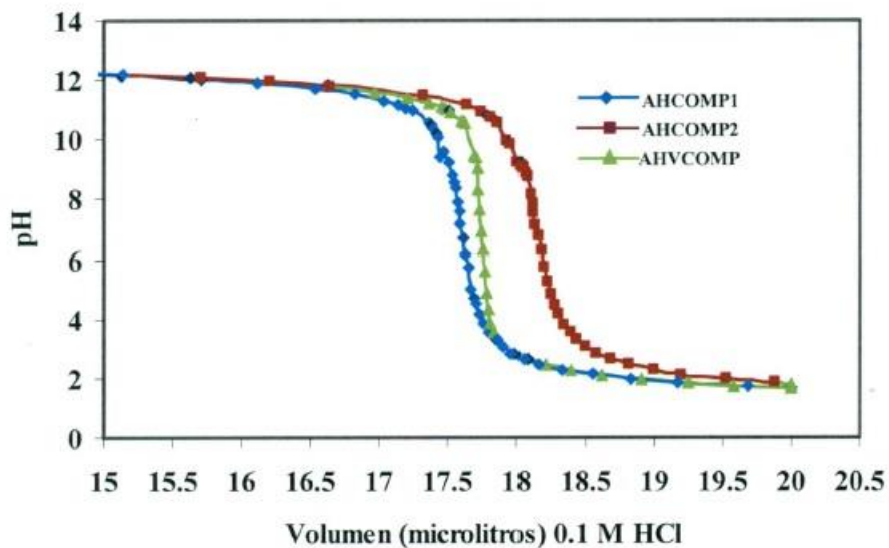


Figura 7.5 Curvas de titulación para calcular contenido de acidez total.

De acuerdo a lo anterior, la acidez total de las muestras se encuentra en el siguiente orden:



La cuantificación de grupos carboxílicos se realizó usando el método del acetato de calcio, donde el ácido húmico reacciona con este reactivo para la formación de ácido acético, de acuerdo a la siguiente reacción (Steven son, 1994):



Titulando el ácido acético formado en la reacción se puede calcular la acidez debida específicamente a los grupos COOH . En la Figura 7.6 se muestra la curva de titulación donde se observa como la muestra AHCOMPI es la que presenta un aumento más rápido en el pH al momento de titular con el NaOH , lo que indica un menor contenido de CH₃COOH y en consecuencia una menor cantidad de grupos COOH. Por otro lado, la muestra AHVCOMP es la que requiere mayor volumen de NaOH en la titulación, lo que indica el mayor contenido de grupos COOH.

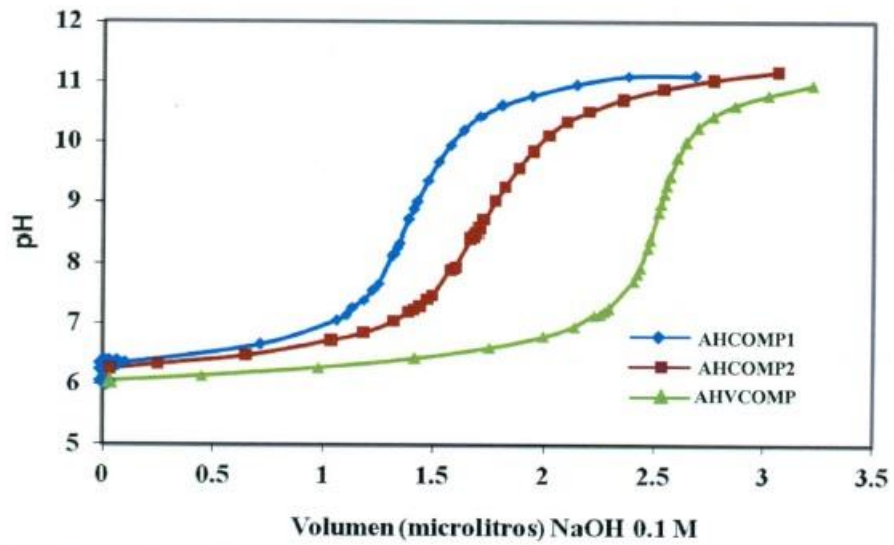


Figura 7.6 Curvas de titulación para calcular la acidez por grupos carboxílicos en ácidos húmicos.

De acuerdo a lo anterior, en el caso particular de la acidez por grupos carboxilo, se tiene el siguiente orden:

$$\text{AHVCOMP} > \text{AHCOMP2} > \text{AHCOMP1}$$

En la **Tabla 7.1** se muestran los valores de acidez total, (R-COOH+R-OH), grupos carboxilo

(R-COOH) y OH fenólicos (R-OH) calculados en base a las titulaciones anteriores. De primera vista podemos notar, que el contenido de los grupos ácidos en cada uno de los AHs es muy variado, fluctuando entre valores de 13.11 meq g⁻¹ para AHCOMP 1 y 10.11 meq g⁻¹ para AHCOMP2. Se puede observar también, que los resultados del contenido de grupos ácidos en las compostas AHCOMP1, AHCOMP2 y AHVCOMP son en su mayoría superiores a los presentados por los AHs de otros orígenes tomados de la literatura. De acuerdo a Chefetz y Hatcher (1998) los valores altos de grupos ácidos se encuentran en aquellos AHs que fueron generados a partir de un alto contenido de lignina (generalmente en césped de corte), como es para el caso de los AHs AHCOMP 1 y AHCOMP2 los cuales tienen un 60% de césped de corte dentro de la mezcla de compostaje. Este alto contenido de acidez es debido a la oxidación de grupos metoxilos y alcohólicos de cadenas laterales presentes en la lignina y a la degradación microbiana de carbohidratos que originan la formación de grupos fenólicos, quinonas, cetonas y carboxilos durante el compostaje. Por otro lado, se puede observar también que solo el AH de la composta (70% Sorgo+ 30% tomate) es semejante a las compostas AHCOMP1, AHCOMP2 y AHVCOMP con un contenido de acidez total de 11.61 meq g⁻¹. Las variaciones en los contenidos de acidez de cada AH son normales, debido a que el contenido de grupos ácidos es dependiente del origen del suelo al igual que de la mezcla de residuos orgánicos y tiempo de compostaje empleados para la generación del AH. Por lo que, muy difícilmente podremos encontrar dos AHs con iguales características si estos provienen de diferentes orígenes.

En lo que respecta a la acidez de grupos OH fenólicos, el valor más alto fue para la muestra AHCOMPI que contiene 11.52 meq g⁻¹, seguida de AHCOMPV con 9.34 meq g⁻¹, y de AHCOMP1 con 7.99 meq g⁻¹. En el caso de la acidez por grupos COOH, los valores obtenidos van de 1.59 para AHCOMP1 y 2.96 meq g⁻¹ para AHVCOMP. El AHCOMP2 mostró un valor intermedio de 2.12 meq g⁻¹.

Tabla 7.1 Acidez total, por grupos COOH y OH en las muestras de ácidos húmicos.

Origen del ácido húmico	Acidez total COOH-OH (meq g ⁻¹)	COOH (meq g ⁻¹)	OH (meq g ⁻¹)	Referencia
AHCOMP1(Composta de 30% lodo residual + 60% pasto + 10% maleza)	13.11	1.59	11.52	En estudio
AHCOMP2 (Composta de 30% lodo residual + 60% pasto + 10% tezontle)	10.11	2.12	7.99	En estudio
AHVCOMP (Humus comercial de vermicomposta)	12.30	2.96	9.34	En estudio
SUELO ÁCIDO	7.30	2.85	4.45	Stevenson , 1994
SUELO NEUTRO	6.40	4.20	2.20	Stevenson, 1994
AH COMERCIAL (Aldrich)	3.32	2.15	1.17	Klavins y Purmalis, 2010
AH ACUATICO (Rio)	5.39	1.00	4.39	Klavins y Purmalis, 2010
AH COMPOSTA (lodo residual 44% + 56% paja de cebada)	4.59	2.71	1.88	Sanchez et al., 2003
AH COMPOSTA (Sorgo 70% + 30% tomate)	11.61	5.67	5.94	Sanchez et al., 2003
AH VERMICOMPOSTA (Residuos orgánicos)	5.10	2.96	2.14	Sanchez et al., 2003
AH VERMICOMPOSTA (Estiércol de pollo 60% + 40% bagazo de soya)	4.00	2.85	1.15	Sanchez et al., 2003

7.5 Relaciones espectrométricas E4/E6

La relación E4/E6 ha sido propuesta como una medida del grado de condensación de la fracción aromática en los ácidos húmicos. De esta manera, mientras una relación de E4/E6 alta refleja un grado bajo de condensación aromática y una proporción grande de estructuras alifáticas, una relación de E4/E6 baja refleja un grado alto de condensación aromática (Fong et al., 2006; Gieguzynska et al., 1998).

De acuerdo a los resultados obtenidos, en nuestras muestras (Tabla 7.2) los valores de las relaciones E4/E6 obtenidos para los AHs de AHCOMP1, AHCOMP2 y AHVCOMP son similares a los obtenidos por AHs de otros orígenes pudiendo indicar que tienen semejanzas en cuanto al grado de condensación aromático.

Tabla 7.2 Relación E₄/E₆ de las muestras de ácidos húmicos.

Origen del ácido húmico	E ₄ /E ₆	Referencia
AHCOMP1(Composta de 30% lodo residual + 60% pasto + 10% maleza)	7	En estudio
AHCOMP2 (Composta de 30% lodo residual + 60% pasto + 10% tezontle)	7.2	En estudio
AHVCOMP (Humus comercial de vermicomposta)	5.7	En estudio
AH COMERCIAL (Aldrich)	4.51	Klavins y Purmalis, 2010
AH ACUATICO (Rio)	8.97	Klavins y Purmalis, 2010
AH COMPOSTA (Sorgo 70% + 30% tomate)	4.30	Sanchez et al., 2003
AH VERMICOMPOSTA (Residuos orgánicos)	8.34	Sanchez et al., 2003
AH VERMICOMPOSTA (Estiércol de pollo 60% + 40% bagazo de soya)	8.77	Sanchez et al., 2003

En este contexto, la proporción de E₄/E₆ más pequeña entre los AHs estudiados corresponde al AHVCOMP comercial indicando una condensación de grupos aromáticos mayor que el de los AHs de las otras compostas. Por otro lado, el AHCOMP2 y AHCOMP1 no mostraron diferencias importantes entre ellos, ambos fueron caracterizados por tener un valor alto de E₄/E₆ (7.2 y 7 respectivamente) que corresponde a un contenido alto de cadenas alifáticas.

Estos resultados son consistentes con los análisis FT-IR de AHCOMP2 y AHCOMP1, los cuales desplegaron bandas relativamente más altas a 1,460 cm⁻¹ (alifáticos C-H) comparados con lo observado para AHVCOMP que despliega una intensidad mayor de absorción a 1,610 cm⁻¹ (aromático C=C y H-enlazado C=O).

7.6 Determinación de la concentración pseudomicelar crítica de los ácidos húmicos

Con los antecedentes de que los ácidos húmicos pueden disminuir la tensión superficial de una solución acuosa, se realizaron pruebas con las diferentes muestras de ácidos húmicos para conocer el efecto que tienen sobre la tensión superficial. Los resultados obtenidos, los cuales son presentados en la Figura 7.7, muestran que al aumentar la concentración de ácidos húmicos va disminuyendo también la tensión superficial de la solución. Así, de un valor inicial de 72 dinas cm^{-1} , se lograron obtener valores de 66 dinas cm^{-1} , 54 dinas cm^{-1} y 51 dinas cm^{-1} para las muestras de AHVCOMP, AHCOMP2, AHCOMP1 respectivamente para concentraciones de 2,000 mg L^{-1} . Para esta misma concentración, en el caso del SDS que es un surfactante comúnmente utilizado, se determinó una tensión superficial de 40 dinas cm^{-1} .

A concentraciones mayores a 2,000 mg L^{-1} se observa una estabilización en los valores de la tensión superficial, de manera que, aunque se aumente la concentración de los ácidos húmicos y del SDS, ya no se refleja en una disminución pronunciada de la tensión superficial. Este punto conocido como la concentración micelar crítica para los surfactantes sintéticos (de otro modo identificado como concentración de agregación), se ha discutido por algunos autores y se ha identificado como concentración pseudomicelar crítica (CPMC) para los AHs de suelo (Wandruszka, 2000).

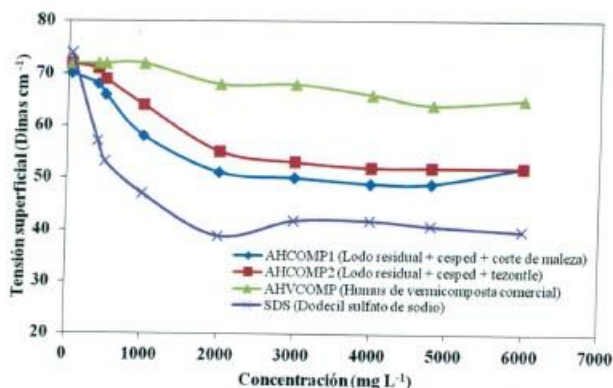


Figura 7.7 Tensión superficial de ácidos húmicos y SDS en función de su concentración.

La CPMC es un importante parámetro para describir la actividad de los ácidos húmicos como surfactantes, ya que este define la concentración a la cual incrementa la habilidad de solubilización como consecuencia de la formación de las micelas. Debido a lo anterior, se calculó la CPMC de cada uno de los ácidos húmicos en estudio graficando la concentración de AH (en mg L^{-1}) contra la tensión superficial en donde dos líneas fueron dibujadas y trasladadas encima de los puntos experimentales, una para la zona de TS con continuo decrecimiento y otra para la zona de la ST donde sus valores eran prácticamente constantes; el punto donde las dos líneas cortan corresponde al valor de la CPMC.

En la Figura 7.8 se muestra el procedimiento realizado para la muestra AHCOMPI, obteniendo una CPMC de $2\ 000\ \text{mg L}^{-1}$

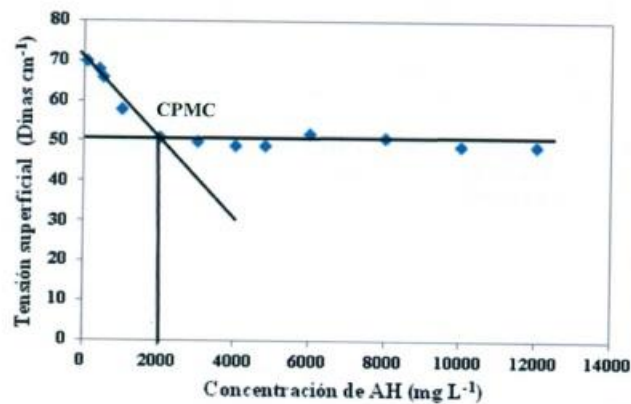


Figura 7.8 Determinación de la concentración pseudomicelar crítica del AHCOMPI.

Los resultados obtenidos de las CPMCs para las diferentes muestras de ácidos húmicos y el surfactante sintético SDS se muestran en la Tabla 7.3, donde además se comparan con valores reportados en otros estudios.

Los cálculos realizados permitieron determinar CPMC de 2,000 y 3,000 mg L⁻¹ para muestras de ácidos húmicos AHCOMPI y AHCOMP2, en tanto que los ácidos húmicos obtenidos de la vermicomposta AHVCOMP presentan un valor de 4,800 mg L⁻¹. Podemos notar que las CPMCs obtenidos para AHs de lodos composteados (AHCOMPI y AHCOMP2) fueron más bajos que aquel reportado para el AH Comercial de leonardita (Aldrich) para el que se reporta un valor de 7,400 mg L⁻¹ y mejor aún, muy similar a la CMC del surfactante sintético SDS que es de 2,350 mg L⁻¹. De lo anterior, podemos concluir que los ácidos húmicos extraídos de las compostas (AHCOMPI y AHCOMP2) tienen mejores características surfactantes que los ácidos húmicos del suelo y similares características surfactantes al SDS en cuanto a la CPMC se refiere.

Comparando los resultados obtenidos con los reportados para los AHs extraídos de los residuos lignocelulósicos y de residuos de comida con y sin compostear se encuentran dentro del orden de magnitud, ya que se reportan valores entre 400 y 4,039 mg L⁻¹ (Tabla 7.3).

Tabla 7.3 Valores de CMC, CPMC y tensión superficial mínima determinada para el surfactante sintético dodecil sulfato de sodio (SDS) y ácidos húmicos extraídos de residuos orgánicos y leonardita.

Producto	CMC y CPMC (mg L ⁻¹)	Tensión superficial (Dinas cm ⁻¹)	Referencia
SDS (Dodecil sulfato de sodio)	2,350	38	En estudio
AHCOMPI	2,000	51	En estudio
AHCOMP2	3,000	54	En estudio
AHVCOMP	4,800	66	En estudio
AHL (Residuos lignocelulósicos de jardín)	4,039	42.9	Quadri et al., 2008
AHLC (Composta de residuos lignocelulósicos)	999	50.4	Quadri et al., 2008
AHLF (Residuos de comida urbanos y lignocelulósicos)	471	40.8	Quadri et al., 2008
AHLFC (Composta de residuos de comida urbanos y lignocelulósicos)	665	47.6	Quadri et al, 2008
CAHL1 (Composta de residuos verdes de parques públicos)	400	36.1	Quadri et al., 2006
CAHL2 (Residuos lignocelulósicos)	970	37.8	Montoneri et al., 2008a
AH COMERCIAL (Aldrich de leonardita)	7,400	50	Gueztlof y Rice, 1994

El comportamiento de los ácidos húmicos de las diferentes muestras puede ser relacionado con sus propiedades químicas determinadas en las secciones anteriores. Como tendencia general se puede observar que los AHs de las compostas de lodos (AHCOMPI, AHCOMP2) producen una mayor disminución en la tensión superficial y tienen una CPMC menor que los AHs de la vermicomposta (AHVCOMP). Mediante las pruebas de FTIR y E4/E6 se encontró que las muestras de composta de lodos tienen una mayor proporción de grupos alifáticos, mientras que la vermicomposta tiene un predominio de grupos aromáticos. Por otro lado, las muestras de ácidos húmicos de la composta (AHCOMPI, AHCOMP2) tienen menor cantidad de grupos carboxilos que la vermicomposta (AHVCOMP). De acuerdo a lo anterior, es importante hacer notar esta premisa, la cual nos indica que la disminución de tensión superficial aumenta cuando predomina la fracción alifática en los ácidos húmicos y cuando se tienen bajos contenidos de grupos COOH.

Este mismo comportamiento fue observado en el trabajo realizado por Quadri et al. 2008, en un estudio donde llevaron a cabo la caracterización de AHs extraídos de una serie de residuos orgánicos (residuos lignocelulósicos de jardín composteados, residuos de comida composteados y residuos de lignocelulósicos de jardín y comida composteados) demostrando que de éstos los AH con mayor contenido de grupos carboxílicos originaron mayores CPMCs. Este comportamiento es muy importante ya que está relacionado con el hecho de que un mayor contenido de grupos carboxílicos en los AHs permite una mayor interacción de enlazamiento entre el H con el agua, lo cual dificulta el desarrollo de las características anfífilas del AH, dando como resultado una mayor CPMC.

7.7 Tensión superficial de soluciones de ácidos húmicos como una función del PH

Existen reportes de que la tensión superficial de las soluciones de ácidos húmicos depende del pH al que se encuentre dicha solución (Yates et al., 1999; Terashima et al., 2004). Con el fin de verificar como se afecta la tensión superficial de nuestras soluciones de ácidos húmicos en particular, se realizaron las mediciones en un rango de pH entre 7 y 2. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 7.9, donde se puede observar que hay un decremento en la tensión superficial a valores de pH ácidos. En el caso de las compostas de lodo (AHCOMPI

AHCOMP2), la tensión superficial disminuye de 65 y 67 dinas cm⁻¹ respectivamente para condiciones de pH 7 a valores de 43 y 45 dinas cm⁻¹ cuando el pH disminuye a un valor de 3.

En el caso de la vermicomposta (AHVCOMP) los valores disminuyen de 65 a 47 dinas cm⁻¹. A valores de pH de 2 hay nuevamente un aumento en la tensión superficial de la solución y la formación de un precipitado de ácidos húmicos. Este hecho es debido a un aumento en la concentración de W que causa la protonación de los grupos carboxílicos en los AH, los cuales eventualmente provocan la precipitación.

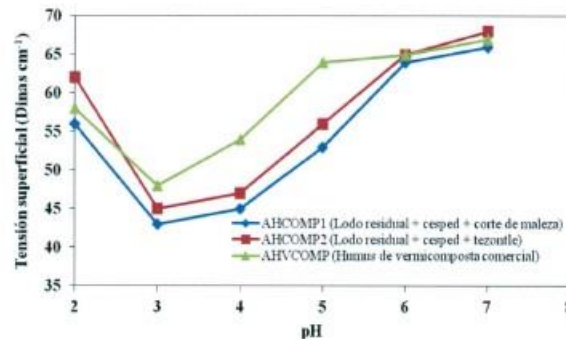


Figura 7.9 Tensión superficial de ácidos húmicos como una función del pH.

El comportamiento de la tensión superficial en función del pH es similar al reportado previamente por Yates y von Wandruszka (1999) para AHs extraídos del suelo. El decrecimiento en la tensión superficial cuando el pH es modificado, indica neutralización de sitios ácidos, los cuales crean especies anfífilas que migran a la interface aire-agua (Yates y von Wandruszka, 1999). El grado en el cual esto ocurre es diferente para cada producto de AH y está relacionado con la densidad y distribución de los grupos funcionales al igual que al tamaño molecular, lo cual precisamente permite los extensivos enlazamientos-H con el solvente acuoso a través del rango de pH experimentado. En el trabajo realizado por Engebretson y Wandruszka (1996), fue observado que alrededor de pH=4, los AH de suelo son especialmente efectivos para la formación de moléculas anfífilas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestros ácidos húmicos, la mayor disminución en la tensión superficial se obtuvo con las compostas de los lodos (AHCOMP1, AHCOMP2) las que tienen un contenido menor de grupos carboxílicos y mayor de grupos alifáticos, lo cual puede provocar un mayor carácter antivirico que favorece el acomodo de la molécula en la interface y una mayor disminución de la tensión superficial.

7.8 Tensión superficial de soluciones de ácidos húmicos en presencia de cationes (Ca^{2+} - Fe^{3+})

En estudios anteriores se ha demostrado que la tensión superficial puede verse afectada por la presencia de cationes presentes en la solución (Yates y von Wandruszka, 1999). Con el fin de evaluar el efecto de la presencia de Ca^{2+} y Fe^{3+} sobre nuestras muestras de ácidos húmicos se evaluó la tensión superficial de la solución en presencia de diferentes concentraciones de los iones entre 1×10^{-5} a 1×10^{-2} M.

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 7.10 y se puede observar que las muestras de las soluciones con los diferentes ácidos húmicos en evaluación tienen comportamientos diferentes. Para el caso específico del calcio, el ácido húmico AHCOMP2 mostró los más bajos valores de TS (57.5 Din/cm) para una concentración de 1×10^{-5} M.

Hasta una concentración de Ca^{2+} de 1×10^{-3} M, se observó que el valor no cambia y luego hay una pequeña disminución y luego un aumento hasta alcanzar 60 Din/cm para una concentración de 1×10^{-2} . En el caso del AHCOMP1, se observaron valores más altos de tensión superficial comenzando en 62 Din/cm y luego con oscilaciones entre 59 y 65 Din/cm sin una tendencia clara. Para la vermicomposta (AHVCOMP), la adición de Ca^{2+} produjo pocos cambios manteniéndose en un rango de valores entre 68.5 y 71 Din/cm.

Con respecto a las pruebas realizadas con la adición del catión trivalente Fe^{3+} a las soluciones de AHs se puede observar un mayor efecto sobre la tensión superficial que cuando se adicionó en Ca^{2+} . El AHVCOMP resultó ser el ácido húmico menos sensible a la adición de Fe^{3+} , dando valores de tensión superficial entre 67.5 a 70 Din/cm, dicho máximo valor cercano al del agua.

Las otras dos muestras de AHs mostraron cambios más significativos en la tensión superficial. La muestra de AHCOMP1 presentó variaciones importantes con aumentos y disminución, de manera que se determinó una tensión de 56.5 Din/cm a la concentración de Fe^{3+} de 1×10^{-5} M, luego hay un aumento hasta 62 Din/cm para una concentración 1×10^{-4} M, una disminución entre el rango de concentraciones de 1×10^{-3} y $1 \times 10^{-3.5}$ M y un nuevo aumento al final para la concentración de $1 \times 10^{-2.5}$ M y valores mayores.

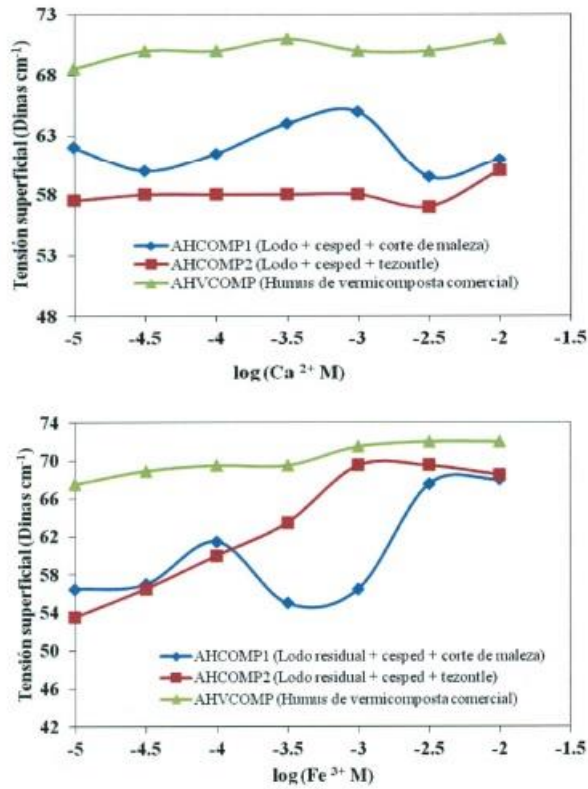


Figura 7.10 Tensión superficial de ácidos húmicos como función de la concentración de Ca²⁺ y Fe³⁺.

Por otra parte, la muestra AHCOMP2 mostró un comportamiento más regular, ya que de un valor inicial de tensión superficial de 53.5 Dinas cm⁻¹ a la concentración de Fe³⁺ de 1x10⁻³ se registró un aumento en la tensión superficial un máximo de 68 Dinas cm⁻¹ para una concentración de 1x10⁻³ M. A mayores concentraciones de hierro se observa una pequeña disminución en la tensión superficial.

Yates y von Wandruszka (1999) han reportado que el mayor efecto de iones metálicos en la TS de AH en solución va de acuerdo al orden siguiente según su carga: Sm³⁺>Mg²⁺> a⁺. Es decir, entre mayor carga de los iones metálicos, menor concentración es necesaria para producir especies anfifílicas húmicas.

En las pruebas realizadas en este trabajo se puede observar que a una mayor carga del ión metálico (Ca^{2+} o Fe^{3+}) se produce una mayor disminución en la tensión superficial a bajas concentraciones del metal. La explicación a este fenómeno es compleja y pudiera estar relacionada con una combinación de factores. En principio, como se había planteado anteriormente, los ácidos húmicos que tienen mayor proporción de cadenas alifáticas favorecen la disminución en la tensión superficial, lo cual ocurre con los materiales húmicos AHCOMP 1 y AHCOMP2.

De estas muestras, AHCOMP2 tiene una mayor cantidad de grupos COOH y presenta una mayor disminución en la tensión, lo cual indica que la presencia de estos grupos pudiera permitir un mejor arreglo de las moléculas de ácidos húmicos cuando el Fe^{3+} se encuentra en bajas concentraciones. Existe un estudio previo donde se proponen las interacciones de los cationes a nivel intermolecular e intermolecular (Tanaka, 2012).

El comportamiento de la tensión superficial, con los aumentos y las disminuciones, podría estar ligado con la incorporación del catión a una molécula de ácido húmico, así como con un segundo proceso de agregación y acomodo de un grupo de moléculas usando el catión como un grupo de enlace tal como se muestra en la Figura 7.11 (Tanaka, 2012), de manera que estos arreglos intermoleculares como los agregados intermoleculares que se han propuesto (Wandruzka, 2000) pueden estar determinando el arreglo de las moléculas en la interface y en consecuencia la tensión superficial.

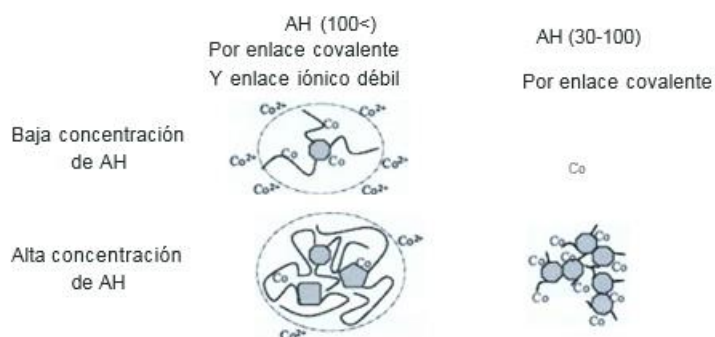


Figura 7.11 Arreglos de la molécula de AH en presencia de cationes.

7.9 Estructura supramolecular de los ácidos húmicos en diferentes condiciones de pH

Con el objetivo de conocer el efecto de la estructura supramolecular de los diferentes ácidos húmicos en estudio sobre la tensión superficial de la solución, se realizaron pruebas de Cromatografía de Exclusión Molecular (CEM) para soluciones a diferentes valores de pH, así como para en presencia de diferentes concentraciones de Fe^{3+} que se mostró como el catión que tiene mayor efecto sobre la tensión superficial.

El primer conjunto de pruebas se realizó aplicando la CEM para soluciones de ácidos húmicos ajustados a un pH de 7, y 4 con el fin de tener diferentes condiciones de disociación de los grupos ácidos del AH. En estas pruebas la concentración de las soluciones de ácidos húmicos las cuales fueron fijadas a 500 mg L^{-1} , ya que a concentraciones mayores no había una buena definición de las señales debido a la saturación de la columna cromatográfica.

En la Figura 7.12 se muestra los cromatogramas obtenidos para la muestra de AHCOMPI obtenidos a diferentes valores de PH.

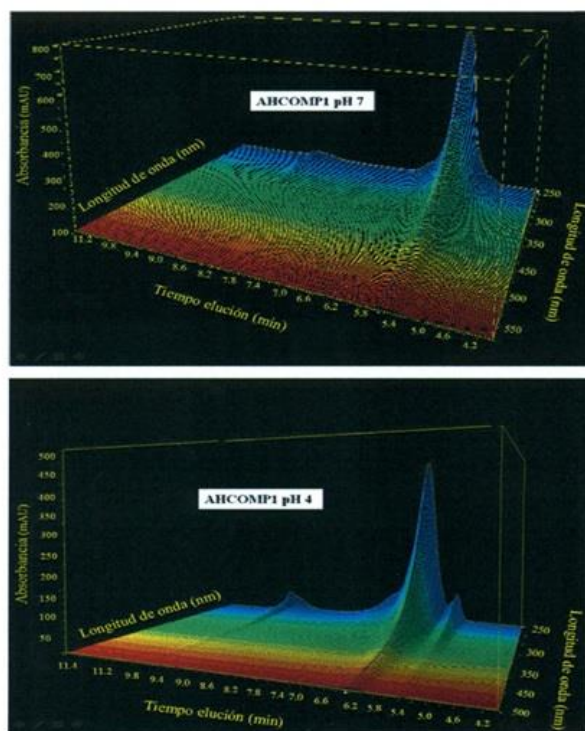


Figura 7.12 Cromatogramas de soluciones de ácidos húmicos AHCOMPI a medios de pH 7 y pH4.

De primera vista observamos que para un pH de 7 existen 2 picos de absorbancia localizados en 9.25 y 5.69 min (Tabla 7.4), lo que indica la presencia de 2 tamaños moleculares diferentes.

Tabla 7.4 Resultados de CEM en soluciones de ácido húmico AHCOMP1.

Medio de pH	pH7	pH4
Tiempos de elución de los picos significativos (amarillo), picos con menor intensidad (verde) y generación de nuevos picos (rojo)/minutos.	9.25- 5.69	10-6.25-5.235
Absorbancia del pico significativo (el de mayor absorbancia en mUA).	785	425
Cambios ocurridos en los cromatogramas.	Absorbancia aumenta un poco y el tiempo de elución no presenta cambios significativos.	Aumenta el tiempo de elución, surge un nuevo pico a un tiempo de elución menor y disminuye la absorbancia del pico máximo. Disminuye el tamaño de los dos picos primero y se presenta un nuevo pico correspondiente a un tamaño mayor.

Con el fin de concentrar la información de una manera más fácil, los datos correspondientes a las muestras restantes se expresarán en tabla de resumen de resultados de la cromatografía.

En la **Tabla 7.5** se muestran los datos obtenidos para la muestra AHCOMP2 a diferentes condiciones de pH.

A pH 7 podemos observar como tiene tres señales que aparecen a 9.4, 5.8 y 5.6. Posteriormente, cuando el pH se disminuye a 4 notamos un fenómeno interesante en donde al parecer los dos últimos picos que aparecen a 5.6 y 5.8 min a pH 7 se unen en una sola señal que aparece a 6.16 min lo que indica que ambas moléculas sufrieron transformaciones que las hace aparecer como una molécula con un tamaño molecular muy similar, además de que disminuye su tamaño por el hecho de que aumenta el tiempo de elución de 5.6 a 6.16 min.

Tabla 7.5 Resultados de CEM en soluciones de ácido húmico AHCOMP2.

Medio de pH	pH7	pH4
Tiempos de elución de los picos significativos (amarillo), picos con menor intensidad (verde) y generación de nuevos picos (rojo).	9.4-5.8-5.60	9.8-6.16
Absorbancia del pico significativo (el de mayor absorbancia en mUA).	808	551
Cambios ocurridos en los cromatogramas.	Ocurre incremento en la absorbancia del pico significativo como consecuencia del acercamiento con otro pico de menor tamaño molecular.	Los picos a 5.8 y 6.6 aparecen como uno solo, con un tamaño molecular menor.

Cuando se realiza la prueba a pH de 4 se observa el corrimiento de los dos picos observados anteriormente a un tiempo de elución de 10 y 6.25 min, así como la aparición de un tercer pico a 5.22 min.

De acuerdo a lo anterior, los dos primeros picos se desplazan a valores más grandes indicando una disminución en el tamaño de la molécula, mostrando un encogimiento en su estructura.

En el caso del pico nuevo que aparece se sitúa en 5.22 min parece ser una molécula de mayor tamaño que pudiera indicar la agregación de dos moléculas individuales de tamaño pequeño, que al unirse dan lugar a una molécula más grande.

Este fenómeno de agregación que se propone pudiera ser debido a que a pH 7 los grupos ácidos se encuentran cargados negativamente y al bajar el pH a 4 los grupos fenólicos y carboxilos se protonan disminuyendo así las fuerzas electrostáticas de cargas negativas, originando la agregación intermolecular y dando como resultado el incremento en los tamaños moleculares.

De acuerdo a lo anterior, los resultados para AHCOMP1 y AHCOMP2 podemos decir que los mayores cambios ocurridos en los tamaños moleculares se llevaron a cabo al cambiar de un pH de 7 a un medio de pH 4.

Este fenómeno puede estar asociado con la protonación de los grupos ácidos a bajos valores de pH que pudieran estar provocando asociaciones y/o disociaciones intermoleculares por efecto de la neutralización de las cargas.

En el caso de la (AHVCOMP), resultados mostrados en la Tabla 7.6, se puede observar que a pH 7 son señales muy parecidas, ya que aparecen los picos de elución a 6.2 y 5.61 min y la absorbancia del pico máximo se encuentra a alrededor de 2,395 mUA.

Sin embargo, cuando el pH se disminuye a 4, aparece otro pico de absorbancia y la señal se vuelve muy ancha, lo cual indica la aparición de moléculas de otro tamaño y la aparición de un grupo de moléculas de peso molecular muy similar.

Al final, a un pH de 4 se logra identificar la presencia de picos a 7.00, 6.19 y 5.4 min, lo que indica que las moléculas tienen menor tamaño por el corrimiento a valores mayores de tiempo de elución, así como la aparición del pico a 5.4 min que indica una molécula de mayor tamaño.

Tabla 7.6 Resultados de CEM en soluciones de ácido húmico AHVCOMP.

Medio de pH	pH7	pH4
Tiempos de elución de los picos significativos (amarillo), picos con menor intensidad (verde) y generación de nuevos picos (rojo).	6.2-5.61	7.00-6.19-5.4
Absorbancia del pico significativo (el de mayor absorbancia en mUA).	2395	1907
Cambios ocurridos en los cromatogramas.	La absorbancia aumenta ligeramente pero nada significativo al igual los tamaños moleculares no sufrieron cambios significativos lo cual indica que la molécula es estable a estos medios de pH.	A este medio de pH el pico con la absorbancia más significativa disminuye en gran medida, presentándose una disminución de tamaño molecular. Por otro lado, el pico que originaba una menor absorbancia a pH 7 presenta también una disminución en su tamaño molecular. Otro fenómeno llevado a cabo es la generación de un nuevo pico con peso molecular mayor a los dos mencionados previamente.

De forma general, después de haber observado los fenómenos que se presentan en los tamaños moleculares para todos los materiales húmicos en estudio (AHCOMPI, AHCOMP2 y AHVCOMP), podemos decir que existen cambios importantes al disminuir el pH de 7 a pH 4 en el medio. En el caso de AHCOMPI y AHVCOMP se tienen dos señales a pH 7, las cuales se convierten en 3 al disminuir el pH. Esto puede indicar una separación de moléculas que pudieran estar asociadas a pH neutro. En el caso de AHCOMP2, sucede lo contrario ya que a pH 7 se muestran 3 señales que se reducen a 2, aunque vale la pena decir que la diferencia entre las señales a 5.60 y 5.80 min es mínima y pudieran en un momento determinado comportarse como una sola molécula.

Asimismo, se puede observar como tendencia general como al disminuir el pH, el tamaño de las moléculas se vuelve más pequeño lo que se observa por el aumento en el tiempo de elución.

Este comportamiento de los ácidos húmicos utilizados puede estar asociado a la protonación de los grupos ácidos (COOH y OH fenólicos) y al hecho de que pueden tener un comportamiento diferente de acuerdo al pH del medio, lo que determina el arreglo intramolecular, y en consecuencia su tamaño, así como la agregación intermolecular.

7.10 Efectos de la adición de cationes (Fe^{3+}) sobre la estructura supramolecular de los ácidos húmicos

Para complementar el análisis sobre los cambios en la tensión superficial, y el efecto de la presencia de cationes, se realizaron pruebas de cromatografía de exclusión molecular en presencia de hierro a diferentes concentraciones. Las pruebas realizadas muestran que, para todos los casos de muestras de ácidos húmicos, aumenta el número de picos que aparecen en los cromatogramas cuando se adiciona Fe^{3+} a la solución, además de que hay una disminución en la señal de la absorbancia entre un 60 y 90% (Tablas 7.7 a 7.9).

En lo que respecta a los cromatogramas del material húmico AHCOMPI, podemos decir que para las primeras dos adiciones del Fe^{3+} no ocurren grandes cambios en cuanto a tamaños moleculares y a absorbancia se refiere presentándose picos de elución a 7.20, 6.60, 6.40 y 5.66 min (Tabla 7.7). Sin embargo, cuando concentramos más el catión a una concentración de 5×10^{-5} M aparece otro pico más de manera que se presentan a 7.20, 6.60, 6.20, 5.8, 5.37 min.

Los dos primeros picos se mantienen en el mismo tiempo de elución, en tanto que los dos últimos se convierten en 3 lo que se puede interpretar como una separación de un agregado de moléculas. Al aumentar la concentración a 1×10^{-4} M se vuelven a identificar nuevamente 4 picos, lo que es indicativo de una nueva agregación de las moléculas. Coincidentemente, las pruebas realizadas de la tensión superficial en función de la concentración de hierro en solución (Figura 7.10) indican como la muestra AHCOMPI tiene oscilaciones importantes en la tensión superficial cuando se cambia la concentración del hierro, lo que pudiera estar relacionado con el efecto de agregación y desagregación de las moléculas en función de la concentración del catión de acuerdo a lo propuesto en la Figura 7.11.

Tabla 7.7 Resultados de los cromatogramas en soluciones de ácido húmico AHCOMPI con adición de Fe^{3+} .

AHCOMPI (500 mg L ⁻¹)				
Concentración Fe^{3+} (M)	5×10^{-6}	1×10^{-5}	5×10^{-5}	1×10^{-4}
Absorbancia del pico significativo (el de mayor absorbancia en mUA).	88	108	54	96
Tiempos de elución de los picos significativos (amarillo), picos con menor intensidad (verde) y generación de nuevos picos (rojo).	7.20 6.60 6.40 5.66	7.20 6.60 6.40 5.66	7.20 6.60 6.20 5.80 5.37	7.20 6.50 6.00 5.61
Cambios ocurridos en los cromatogramas.	Condiciones iniciales.	Absorbancia aumenta y el tamaño molecular aumenta.	Disminuye la absorbancia, existe una disminución de pesos moleculares en los 2 primeros picos pero se genera un tercero con un tamaño molecular mayor al de cualquier medio de pH.	

En el caso del ácido húmico AHCOMP2 se observa la presencia de cuatro picos de diferentes tamaños moleculares que aparecen a 7.20, 6.60, 6.30, 5.71 min (Tabla 7.8). Estos picos se mantuvieron prácticamente en los mismos valores al cambiar las condiciones de concentración del hierro, aunque hubo algunos cambios en la absorbancia. En las pruebas s de tensión superficial realizadas en este rango de concentración (Figura 7.10) se muestra un incremento en la tensión superficial, sin mostrar oscilaciones como en el caso de AHCOMP1, lo que puede ser indicativo de que no hay re arreglos importantes dentro de las moléculas cuando se cambia la concentración del hierro.

Tabla 7.8 Resultados de los cromatogramas en soluciones de ácido húmico AHCOMP2 con adición de Fe³⁺.

AHCOMP2 (500 mg L ⁻¹)				
Concentración Fe ³⁺ (M)	5x10 ⁻⁶	1x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁵	1x10 ⁻⁴
Absorbancia del pico significativo (el de mayor absorbancia en mUA).	178	140	105	132
Tiempos de elución de los picos significativos (amarillo), picos con menor intensidad (verde) y generación de nuevos picos (rojo).	7.20 6.60 6.30 5.71	7.20 6.60 6.30 5.69	7.20 6.70 6.30 5.66	7.20 6.70 6.40 5.66
Cambios ocurridos en los cromatogramas.	Condiciones iniciales.	Absorbancia aumenta y el tamaño molecular aumenta.	Disminuye la absorbancia, existe una disminución de pesos moleculares en los 2 primeros picos pero se genera un tercero con un tamaño molecular mayor al de cualquier medio de pH.	

La Tabla 7.9 muestra los resultados para la muestra de vermicomposta (AHVCOMP), donde se pueden identificar 4 señales de absorbancia a 7.00, 6.40, 6.20, 5.74 min los cuales pueden estar asociados a moléculas de 4 diferentes valores de peso molecular. Al aumentar la concentración de Fe²⁺ se puede observar pequeños cambios hacia valores más grandes de tiempo de elución, de manera que el pico de 7.00 se traslada a 6.40 min, el de 6.40 a 6.20 min, el de 6.20 a 5.80 min y el de 5.74 a 5.71 min.

En este caso como tendencia general se puede observar un pequeño aumento en el tamaño de las moléculas, que sin embargo no se refleja en variaciones importantes de la tensión superficial (Figura 7.10). El cambio en los valores obtenidos del tiempo de elución aparentemente no refleja agregaciones o disgregaciones como ocurre con AHCOMP1

Tabla 7.9 Resultados de los cromatogramas en soluciones de ácido húmico AHVCOMP con adición de Fe³⁺.

AHVCOMP (500 mg L ⁻¹)				
Concentración Fe ³⁺ (M)	5x10 ⁻⁶	1x10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁵	1x10 ⁻⁴
Absorbancia del pico significativo (el de mayor absorbancia en mUA).	520	470	520	580
Tiempos de elución de los picos significativos (amarillo), picos con menor intensidad (verde) y generación de nuevos picos (rojo).	7.00 6.40 6.20 5.74	7.00 6.40 6.20 5.71	6.40 6.20 6.00 5.68	6.40 6.20 5.80 5.71
Cambios ocurridos en los cromatogramas.	Condiciones iniciales.	Absorbancia aumenta y el tamaño molecular aumenta.	Disminuye la absorbancia, aumenta el tamaño molecular.	

De forma general, el estudio de cromatografía de exclusión molecular de las soluciones de ácidos húmicos adicionados con hierro nos indica que la presencia del catión puede afectar la estructura supramolecular del ácido húmico, cambiando arreglo conformacional y el tamaño. Además, también se puede presentar un efecto de agregación y disgregación de las moléculas del ácido húmico como consecuencia de las interacciones intermoleculares que pudieran estar usando el hierro como punto de enlace.

De las muestras de ácidos húmicos, el que presenta mayor efecto de la concentración del hierro sobre las moléculas de ácido húmico es la AHCOMPI, el cual tiene mayor presencia de grupos alifáticos, y menor contenido de grupos COOH (1.59 meq g⁻¹) comparativamente con la muestra AHCOMP1, identificada como una estructura con predominancia de grupos alifáticos y con un valor de acidez de carboxilos de 2.12 meq g⁻¹. El ácido húmico de la vermicomposta AHVCOMP, en la cual se identificó una mayor presencia de grupos aromáticos y el mayor valor de COOH (2.96 meq g⁻¹) es el que muestra mayor estabilidad en cuanto a las señales de absorbancia y en los valores de tensión superficial.

Cabe hacer mención que el pH promedio del medio en las soluciones húmicas es de 6, pH en el cual los grupos carboxílicos se encuentran disociados y serían en su mayoría los responsables de las modificaciones moleculares, no así para el caso de los grupos OH fenólicos que a ese medio se encuentran aún protonados. Al parecer, cuando la molécula de ácido húmico contiene menos cantidad de grupos carboxílicos se facilita la interacción intramolecular e intermolecular, debido a que están más expuestos a interactuar con el catión, ya que las fuerzas de repulsión entre ellos son menores, no así para los materiales húmicos de mayor contenido en grupos ácidos, puesto que por la cercanía de éstos las fuerzas de repulsión electrostáticas son mayores provocando la ubicación de estos grupos hacia el interior de la molécula dando origen a la baja disponibilidad de ellos para interactuar con los cationes.

Por otro lado, la información de las pruebas de cromatografía de exclusión molecular obtenidas para los materiales húmicos, corroboran los fenómenos observados en el estudio de los cambios en la tensión superficial causados por la adición de Fe²⁺ (Figura 7.10), ya que al igual que en la cromatografía, el material húmico en donde se presentaron los mayores cambios en la estructura molecular y en la disminución de la tensión superficial, fue el material AHCOMPI, el cual tiene la menor presencia de grupos carboxilos.

7.11 Simulación molecular de los ácidos húmicos

En esta sección se discutirá algunos aspectos geométricos obtenidos de la simulación molecular de las diferentes especies propuestas para un modelo representativo de ácido húmico. Las diferencias entre cada uno de los modelos propuestos están referidos a un valor probable de pH y se discutirá aspectos geométricos y electrónicos. Los resultados obtenidos del modelado molecular se relacionan con los resultados experimentales referidos a los datos obtenidos para la tensión superficial, principalmente.

El modelo empleado para la representación del ácido húmico es el reportado por Wandruzka (2000) el cuál se muestra en la Figura 7.13a. Esta molécula fue considerada la de referencia para construir las otras especies. Partiendo de esta representación se estudiaron varias especies propuestas para pH diferentes.

De acuerdo a lo reportado en la Khil'ko et al. (2011) en donde sugieren que la deprotonación de los grupos carboxílicos se alcanza a un valor de pH de 7, mientras la deprotonación total de la molécula se logra a un valor de 10.5. A este respecto y de acuerdo con lo experimentos realizados en esta investigación solo se consideran valores de pH ácido (pH 4) y neutro (pH 7), por lo que la simulación molecular solo está referida a estos valores de pH. En estudios reportados (Corona-A ven daño et al., 2007) para moléculas neurotransmisoras (Dopamina), en donde se encuentran presentes grupos amino y grupos catecol, obtienen que a pH ácido el grupo amino se encuentra protonado y que también conforme el pH aumenta, el protón de este grupo es el primero en salir, antes que los -OH del grupo catecol o alcoholes primarios; tomando como referencia estos resultados, se propone para este estudio que a pH 4 el grupo amino debe encontrarse en su forma protonada, al igual que los grupos carboxílicos y alcoholes primarios y secundarios, incluyendo el de los grupos catecol.

El modelo molecular representativo a pH 4 es el que se presenta en la Figura 7.13b, nombrada en los sucesivos como AH-AllProt, mientras que a pH 7 se proponen dos modelos diferentes, uno en el que los grupos carboxilos han perdido los protones, mientras el grupo amino continua protonado, Figura 7.13c, nombrada en los sucesivos como AH-NH 3 y el otro en donde se han perdido los protones tanto del grupo amino como de los carboxilos, Figura 7.13d nombrada en los sucesivos como AH-COO. Para estos modelos propuestos y las simulaciones hechas, se tomó en cuenta el medio (agua) y su efecto como disolvente mediante el formalismo propuesto por (Miertus et al., 1981) y el nivel de teoría empleado es con el método mejorado a nivel semiempírico PM6 propuesto por Stewart (2007).

Una vez que se construyeron los modelos geométricos mencionados anteriormente se corrieron los cálculos para obtener las geometrías óptimas y algunas propiedades electrónicas se discuten a continuación, además de realizar los cálculos de frecuencias para corroborar que correspondían a geometrías mínimas, esto es, revisar que todas frecuencias asociadas al sistema fueran positivas.

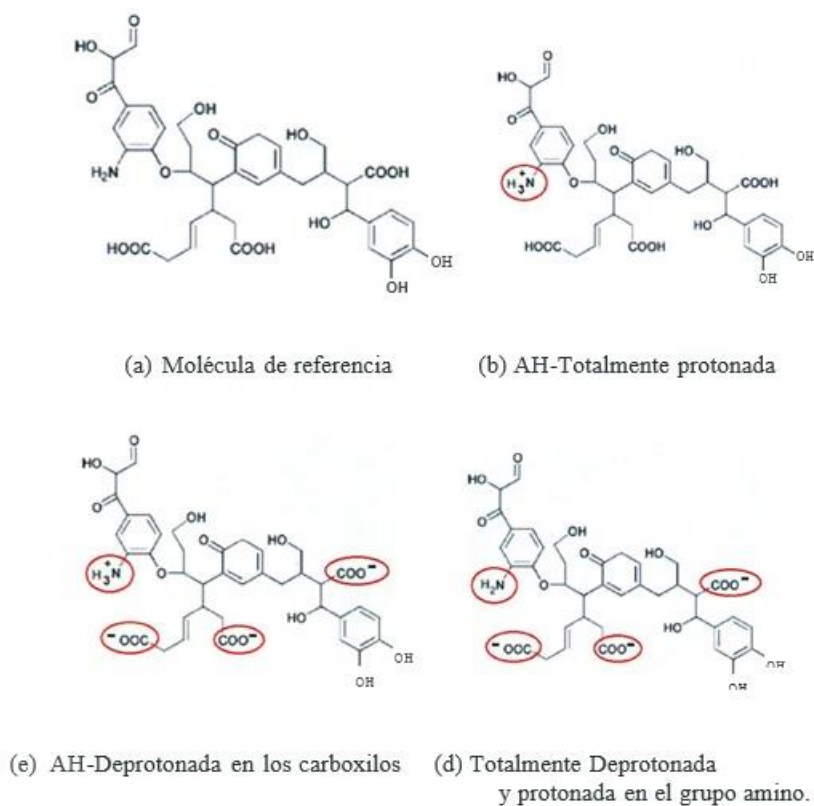


Figura 7.13 (a) Molécula tomada como referencia, (Wandruzka, 2000), (b) Molécula totalmente protonada, pH ácido, AH-AllProt; en (c) Molécula deprotonada en los carboxilos y protonada en el grupo amino, pH=7.0 AH-NH₃ y en (d) Molécula deprotonada en los carboxilos y en el grupo amino, pH=7.0 AH-C90.

Entonces para la molécula AH-AIIProt, la geometría óptima encontrada del proceso de optimización geométrica se muestra en la Figura 7.14. De la figura se puede comentar que existe una interacción intermolecular entre uno de los hidrógenos del grupo amino y el $>C=O$ de un grupo carboxilo, así como entre grupos de alcoholes. El momento dipolar que muestra esta molécula es de $J.I = 4.81$ Debyes. En la Figura 7.15 se muestra el espectro teórico IR obtenido para esta molécula y se señalan algunas frecuencias importantes para este sistema. Mientras que un mapeo de la densidad electrónica mostrada en la Figura 7.16, nos indica que la molécula tiene una densidad electrónica negativa, de acuerdo a la escala mostrada en (a) en la parte superior. De la figura también se puede ver que la mayor densidad electrónica se encuentra localizada al interior de la molécula, en la parte central de ésta. Por lo que es de esperarse de acuerdo a los resultados obtenidos para esta molécula que sea poco soluble en agua.

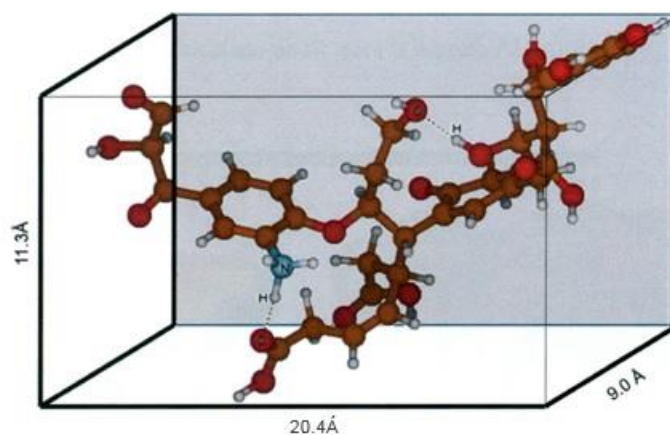


Figura 7.14 Estructura geométrica óptima para la molécula representativa del ácido húmico, nombrada como AH-AIIProt. Átomos de Carbono, C, están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. $J.I = 4.81$ Debyes.

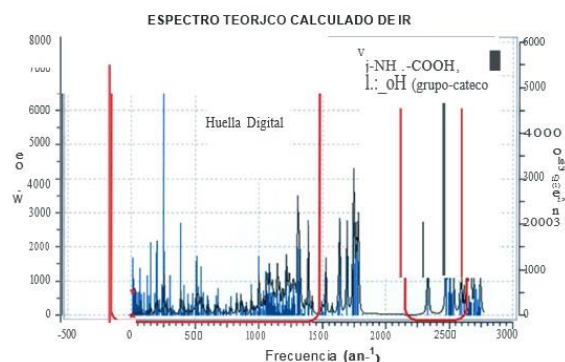


Figura 7.15 Espectro teórico calculado de IR para la especie AH-AIIProt.

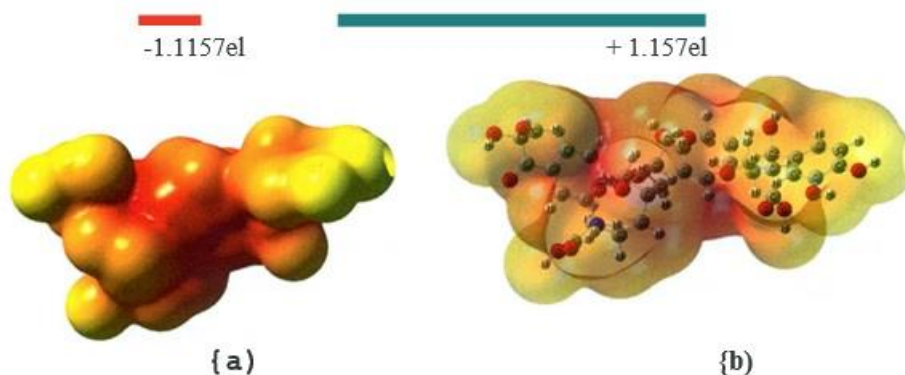


Figura 7.16 Diagrama esquemático de la isosuperficie para la densidad electrónica en la especie AH-AllProt. Valor de la isosuperficie 0.0004. En (b) se presenta la misma distribución, solo que la isosuperficie es translúcida para ver la distribución atómica al interior de la isosuperficie.

Con respecto a la distribución orbital, en la Figura 7.17, se muestra la distribución para el HOMO (último orbital ocupado) y LUMO (primer orbital desocupado).

De la figura se puede ver la distribución del HOMO que está situado en el grupo catecol y el LUMO se encuentra más extendido no solo localizado en el anillo aromático, sino también los grupos vecinos como es el grupo eter y el carboxilo.

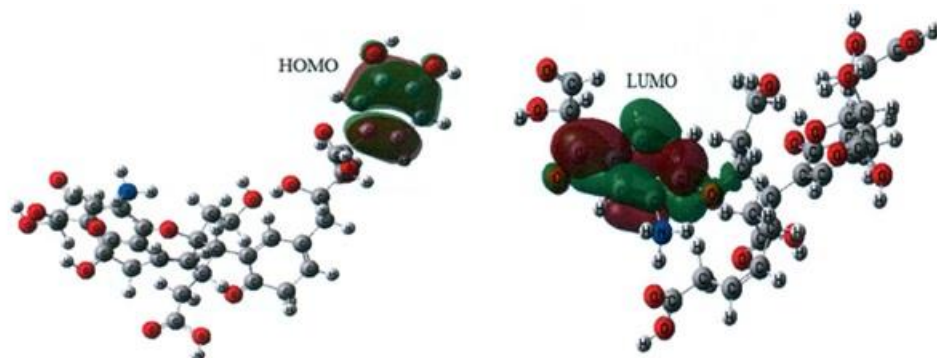


Figura 7.17 Diagrama esquemático de la isosuperficie orbital para la especie AH-AllProt. En la figura se muestra a la distribución HOMO y LUMO. Átomos de Carbono, C, están coloreados en gris, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. Valor de la isosuperficie 0.02.

En lo que respecta a los resultados obtenidos para la especie nombrada como AH-NH₃, en donde se presenta en la Figura 7.18 se muestra la geometría óptima encontrada.

De la figura se puede observar que también se forman interacciones intermoleculares entre grupos carboxilos con el protón del grupo amino, así como una interacción entre el grupo cetona y el hidrógeno de grupo -OH.

El momento dipolar obtenido para esta molécula es de $\mu = 29.84$ Debyes, mayor que para la especie AH-AllProt.

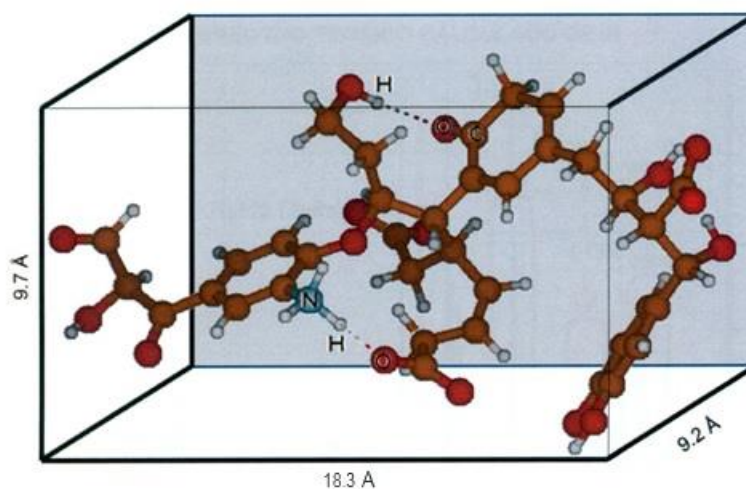


Figura 7.18 Estructura geométrica óptima para la molécula representativa del ácido húmico, nombrada como AH-NH₃. Átomos de Carbono, C, están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. $\mu = 29.84$ Debyes.

En la Figura 7.19 se muestra el espectro teórico IR obtenido ahora para el modelo AH- H3 y se señalan algunas frecuencias importantes para este sistema. La discusión de los diferentes espectros obtenidos para cada especie propuesta se presentará al final de esta sección. Respecto a la distribución de la isosuperficie mostrada para la densidad electrónica de la AH- NH3, mostrada en la Figura 7.20, se puede ver que la mayor densidad electrónica se encuentra localizada al interior de la molécula en la parte central de ésta, pero con menor intensidad de carga electrónica negativa, de acuerdo a la escala mostrada en (a) en la parte superior y si se compara con lo obtenido para AH-AllProt. Por lo que es de esperarse de acuerdo a los resultados obtenidos para esta molécula que presente una mayor solubilidad en agua.

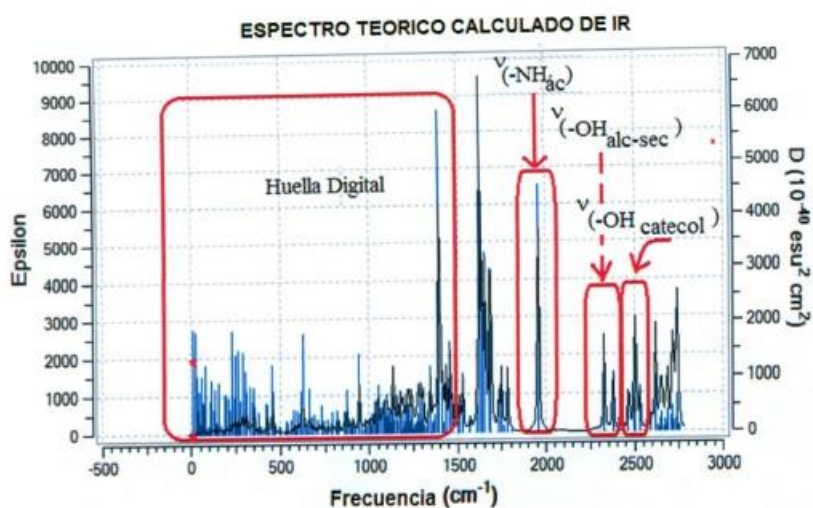


Figura 7.19 Espectro teórico calculado de IR para la especie AH-NH3.

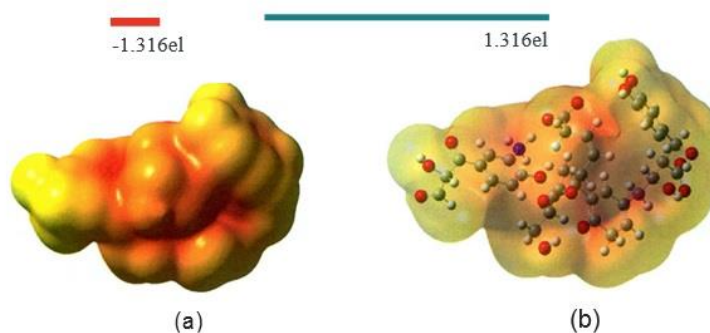


Figura 7.20 Diagrama esquemático de la isosuperficie para la densidad electrónica para la especie AH-NH3. Valor de la isosuperficie 0.0004. En (b) se presenta la misma distribución, solo que la isosuperficie es traslucida para ver la distribución atómica al interior de la isosuperficie.

Con respecto a la distribución orbital, en la Figura 7.21 se muestra la distribución para el HOMO y LUMO.

De la figura se puede ver que los anillos aromáticos toman un papel importante en la distribución de estos orbitales. Así en la distribución del HOMO está situado en el grupo catecol, mientras el LUMO se encuentra situado el anillo aromático extendiéndose hacia los grupos vecinos, como es el grupo eter y el carboxilo.

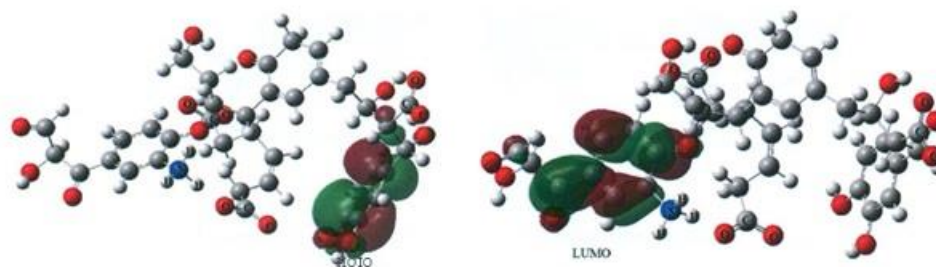


Figura 7.21 Diagrama esquemático de la isosuperficie orbital para la especie AH-NH₃. En la figura se muestra a la distribución HOMO y LUMO. Átomos de Carbono, C, están coloreados en gris, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. Valor de la isosuperficie 0.02.

En el caso de la molécula AH-COO en donde tanto el grupo amino como el grupo carboxilo se encuentra deprotonado, se obtuvieron algunas diferencias con respecto a los modelos discutidos anteriormente.

En la Figura 7.22 se muestra la geometría óptima obtenida para esta especie, con un momento dipolar de $J.1 = 13.66$ Debyes.

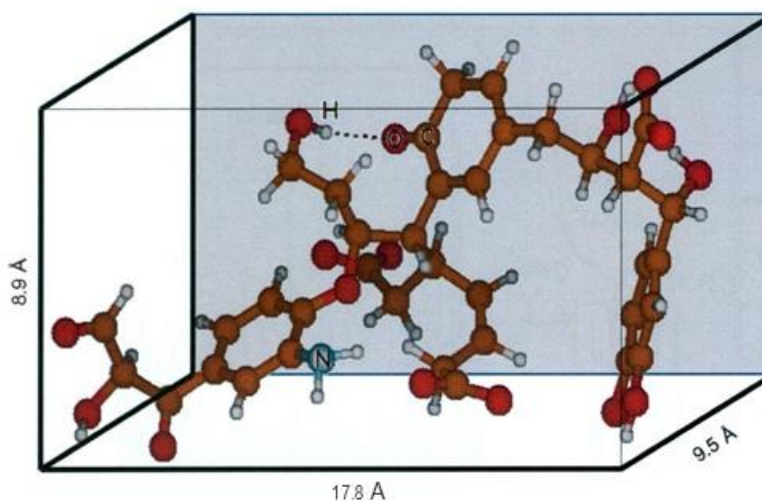


Figura 7.22 Estructura geométrica óptima para la molécula representativa del ácido húmico, nombrada como AH-COO. Átomos de Carbono, C, están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. $f_1 = 13.66$ Debyes.

Es de hacer notar que cuando el grupo amino no se encuentra protonado la interacción intermolecular entre este grupo y el carboxilo deprotonado no se forma, mientras la afinidad entre el hidrógeno del alcohol primario -OH y el grupo $>C=O$ permanece. El momento dipolar disminuye con respecto a AH-NH₃ y el tamaño de la molécula AH-COO también disminuye, siendo la más pequeña en volumen de los tres modelos presentados. El espectro de IR para esta especie AH-COO se muestra en la Figura 7.23, en donde nuevamente se muestran solo algunas de las frecuencias asociadas a los grupos amino y carboxilos presentes en la estructura de las moléculas.

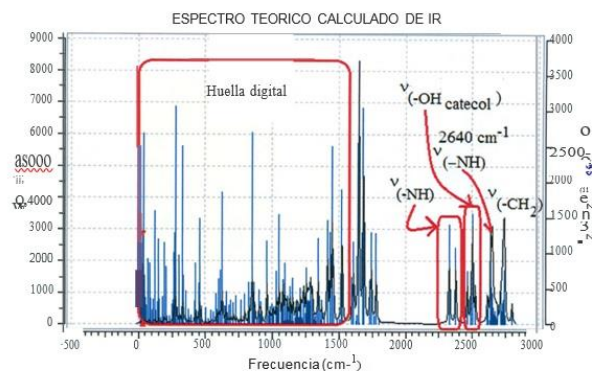


Figura 7.23 Espectro teórico calculado de IR para la especie AH-COO.

Respecto a la distribución de la isosuperficie mostrada para la densidad electrónica de la AH- COO, en la Figura 7.24 se puede ver cómo cambia su densidad electrónica con respecto a las otras especies, mostrando una disminución de la densidad electrónica en la terminación aldólica (parte izquierda de la figura), ésta va aumentando hacia el interior de la molécula, pero en menor proporción con respecto a la totalmente protonada (AH-AIIProt) y AH-NH3.

Por lo que es de esperarse de acuerdo a los resultados obtenidos que esta molécula también presente una mayor solubilidad en agua.

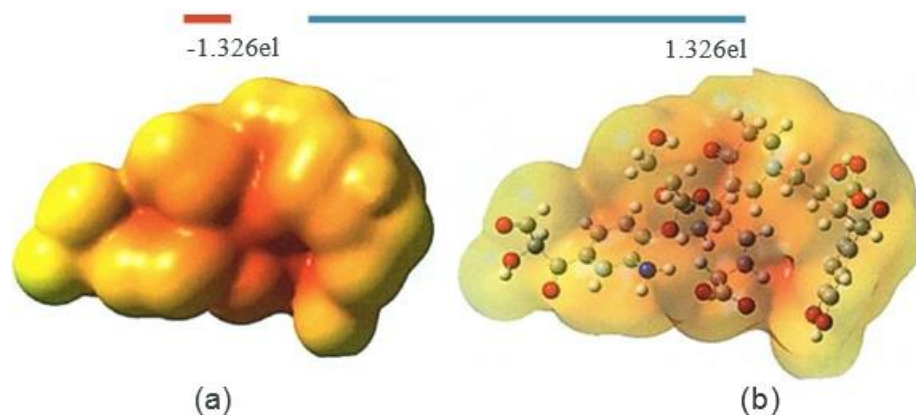


Figura 7.24 Diagrama esquemático de la isosuperficie para la densidad electrónica para la especie AH-COO. Valor de la isosuperficie 0.0004. En (b) se presenta la misma distribución, solo que la isosuperficie es translúcida para ver la distribución atómica al interior de la isosuperficie.

Con respecto a la distribución orbital, en la Figura 7.25, se muestra la distribución para el HOMO y LUMO. De la figura se puede ver que la distribución del HOMO ha cambiado para esta especie, situándose ahora en el grupo amino y en menor proporción en el grupo carboxilo, además del anillo aromático, ambos cercanos a él.

En el caso del LUMO su distribución no cambia con respecto a AH-AIIProt y AH-NH3. El grupo amino ahora si tiene contribución. Ahora en el caso inverso, en donde se quisiera protonar la molécula, el protón podría interactuar con el grupo amino o el grupo carboxilo, dependiendo de la afinidad protónica de cada grupo.

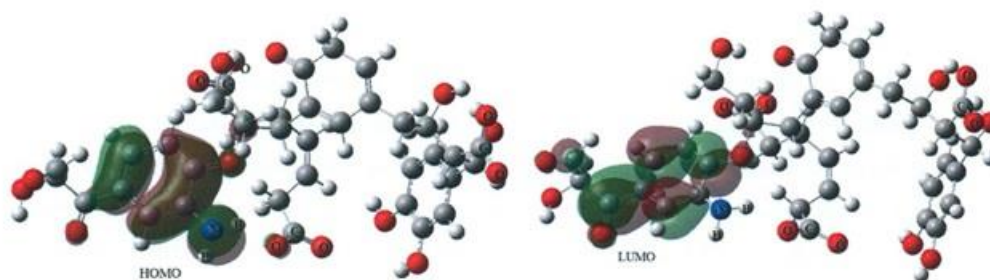


Figura 7.25 Diagrama esquemático de la isosuperficie orbital para la especie AH-COO. En la figura se muestra a la distribución HOMO y LUMO. Átomos de Carbono, C, están coloreados en gris, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul. Valor de la isosuperficie 0.02.

De acuerdo al significado de la tensión superficial, se sabe que es la fuerza que actúa tangencialmente por unidad de longitud en el borde de una superficie libre de un líquido en equilibrio y que tiende a contraer dicha superficie.

Las fuerzas cohesivas entre las moléculas de un líquido, son las responsables del fenómeno conocido como tensión superficial.

Por lo que entonces en una macromolécula como lo es un ácido húmico, se esperaría que la molécula se contraiga, esto es, que ocupe un menor volumen para aumentar su tensión superficial.

En la Figura 7.26 se puede ver que dependiendo de la cantidad de protones involucrados en el modelo molecular es la variación del tamaño.

Así en caso de la totalmente protonada, AH-AllProt, resulto ser la que ocupa un mayor volumen, mientras que la deprotonada en los grupos carboxílicos y protonada en el grupo amino, AH-NH₃, resulto ser la de tamaño intermedio y en el caso de AH-COO es la que menor volumen ocupa de espacio.

Tratando de correlacionar los resultados obtenidos de la simulación sobre los tamaños de molécula con los resultados de las pruebas experimentales de CEM de la sección 7.9 podemos observar que es difícil hacer una correlación en los resultados, debido a que las pruebas de cromatografía indican fenómenos de agregación y desagregación que ocurren cuando se cambia el pH de la solución. Esto se manifiesta por la aparición y desaparición de picos de absorbancia cuando se cambian las condiciones:

Por ejemplo, en el caso de la muestra AHCOMPI a pH 7 se observan dos picos de elución 9.25 min y 5.69 min que se convierten en señales que aparecen a 10.00 min, 6.25 min y 5.22 min a pH 4. Aparentemente hay una disminución del tamaño porque comienzan a aparecer señales a tiempos de elución más grandes, sin embargo, la aparición de otra señal adicional puede deberse a la separación de moléculas de diferente tamaño que estaban asociadas y que al disminuir el pH se separaron. Este comportamiento se presenta de manera similar en las muestras AHCOMP2 y AHVCOMP en las que se observa un cambio en el número de señales que aparecen al cambiar las condiciones de pH.

De acuerdo a lo anterior, se puede afirmar que existen diferencias en las interpretaciones de los tamaños moleculares estimados teóricamente y los que se evidencian por la técnica de CEM debido a que la simulación considera la molécula de ácido húmico como una molécula aislada, en tanto que en los resultados experimentales muestran claramente un fenómeno de asociación intermolecular que no se consideró en la simulación.

En la Figura 7.26, también se reporta el momento dipolar, en donde como se puede ver no sigue una tendencia, siendo la de menor momento dipolar la molécula totalmente protonada, AH-AIIProt.

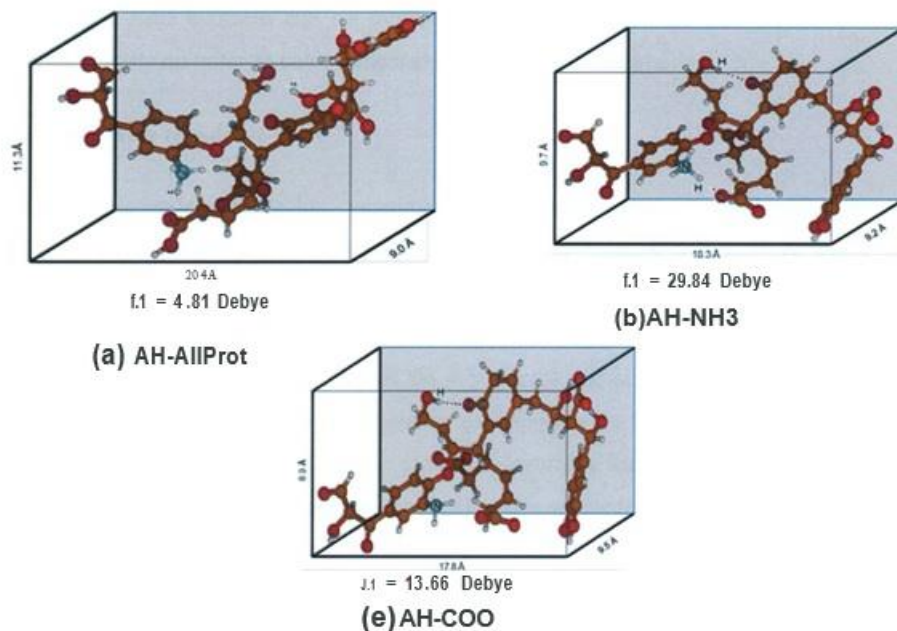


Figura 7.26 Modelos propuestos para el ácido húmico, en donde se compara el volumen ocupado para cada especie propuesta. Átomos de Carbono, C, están coloreados en café, átomos de oxígenos en rojo, átomos de hidrógeno en blanco y el átomo de nitrógeno en azul.

Comparando los resultados de los espectros teóricos calculados, se puede ver que en el caso de los modelos propuestos para AH-AllProt y AH-COO a los valores de frecuencia de 1,850 cm⁻¹ hasta 2,300 cm⁻¹, no aparece ninguna señal característica para algún grupo funcional en particular, mientras que para el modelo AH-NH₃ aparece una señal a 1,950 cm⁻¹ característica del grupo -NH₃, en donde el H corresponde al hidrógeno más electropositivo de con respecto a los demás. Si se compara con los resultados obtenidos experimentalmente evaluados para las diferentes muestras de ácidos húmicos, se puede observar una pequeña señal entre 1,850 cm⁻¹ hasta 2,300 cm⁻¹, la cual podría atribuirse a este grupo -NH₃. Por lo que de acuerdo con lo obtenido experimentalmente y lo calculado, se puede decir, que a pH 7 el grupo amino se encuentra protonado, mientras los carboxilos han perdido su protón ácido, lo cual lleva a cambios en el acomodo de la molécula, colocándose los grupos carboxilo deprotonado hacia el exterior, que hace contacto con las moléculas de agua presentando una mayor solubilidad, mientras la parte no polar se coloca hacia el interior de la molécula.

7.12 Pruebas de lavado de suelo

Con el fin de poder aplicar los conocimientos generados sobre el comportamiento de los ácidos húmicos en diferentes condiciones, se realizaron pruebas de lavado de suelo que se contaminó con hidrocarburos poliaromáticos (naftaleno, antraceno y pireno) realizando el proceso con soluciones de ácidos húmicos a diferentes concentraciones entre 2,000 y 4,800 mg L⁻¹ y probando condiciones de pH de 4 y 7 para ver si tiene algún efecto la tensión superficial. Las concentraciones elegidas corresponden a valores por encima de la concentración pseudomicelar crítica con el fin de asegurar la formación de las micelas del AH. La caracterización del suelo empleado para los lavados se puede observar en la Tabla 7.10.

Tabla 7.10 Características del suelo usado.

Parámetro		Valor encontrado	Unidades	Interpretación (*)
pH		6.41	Unidades	Ligeramente ácido
Conductividad eléctrica		0.02	dSm ⁻¹	Efectos imperceptibles de salinidad
Materia orgánica		1.81	%	Medio
Textura	Arena	44.20	%	Franca clave C
	Arcilla	19.96		
	Limo	35.84		
Capacidad de intercambio (CIC)		21.38	Cmol (+) kg ⁻¹	Media
Bases intercambiables		Cmol(+) kg ⁻¹	ppm	En suelo secado al aire
	Calcio (Ca)	0.97	1947.71	Medio
	Magnesio (Mg)	0.02	25.74	Muy bajo
	Sodio (Na)	0.98	225.73	Ninguno
	Potasio (K)	0.20	78.60	Muy bajo
Ac. Húmicos Totales		1.06	%	2,650 ppm
Ac. Húmicos		0.59	%	1,475 ppm
Ac. Fulvicos		0.47	%	1,175 ppm
Relación C/N		11.60	Sin unidades	

En la Figura 7.27 se muestran las pruebas de lavado realizadas con el naftaleno donde se puede apreciar que a pH 7 se tienen porcentajes de remoción elevados, en términos generales entre un 38% y 90% resultando más eficientes los lavados empleando la muestra AHVCOMP

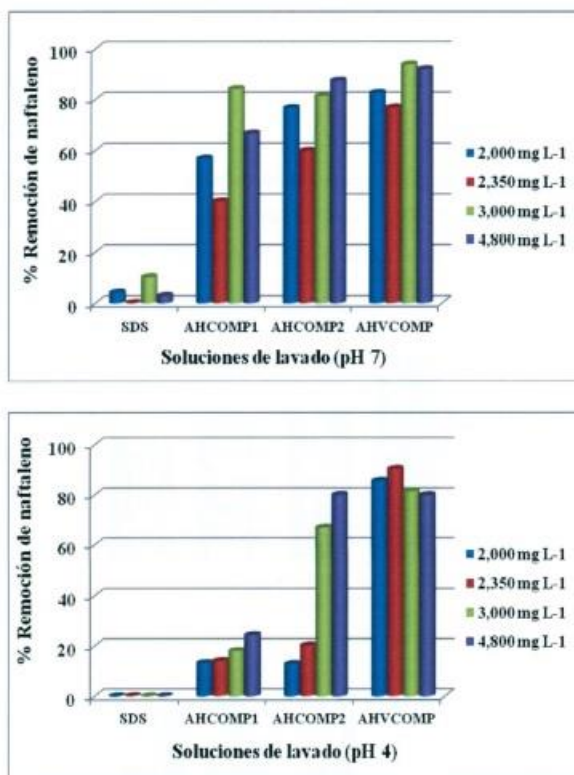


Figura 7.27 Lavado de suelo contaminado con naftaleno mediante diferentes concentraciones y medios de pH de ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).

Se observa asimismo que un aumento de la concentración de la solución de ácidos húmicos se manifiesta en una mejor remoción del contaminante, así como el hecho de que se pueden tener buenos resultados de remoción usando concentraciones de 2,000 mg L- 1 a pH 7 y pH 4 (caso específico para AHVCOMP).

Cuando las pruebas se realizan a pH de 4, hay una disminución significativa en la capacidad de remoción del naftaleno, que se muestra particularmente para las muestras AHCOMP1 y AHCOMP2 que remueven solamente el 21% a concentraciones de 4,800 mg L- 1 de AH. En el caso de AHVCOMP se logran mantener porcentajes de remoción por encima del 80%, lo cual indica que el cambio de pH tiene poco efecto sobre su capacidad como agente extractante.

En ambas condiciones de pH la extracción del naftaleno por parte del SOS es mínima, con un valor menor al 10%.

En lo que respecta al suelo contaminado con antraceno (Figura 7.28) la mayor remoción del contaminante se lleva a cabo a pH 7 (81% para AHVCOMP), sin embargo, a pH 4 AHVCOMP obtuvo los menores porcentajes de remoción entre 28%-30%.

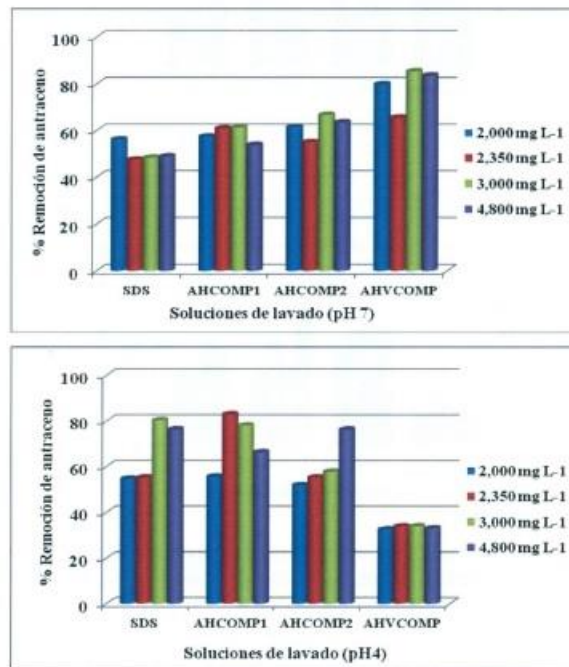


Figura 7.28 Lavado de suelo contaminado con antraceno mediante diferentes concentraciones y medios de pH de ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).

La Figura 7.29 indica que los porcentajes de remoción del pireno mediante las soluciones de lavado fueron muy parecidas independientemente del medio de pH y estas se encontraron entre el 20% y 50% de remoción (a excepción de la solución de AHVCOMP en donde a un pH 4 se presentó una mínima remoción de entre el 10% y 20%).

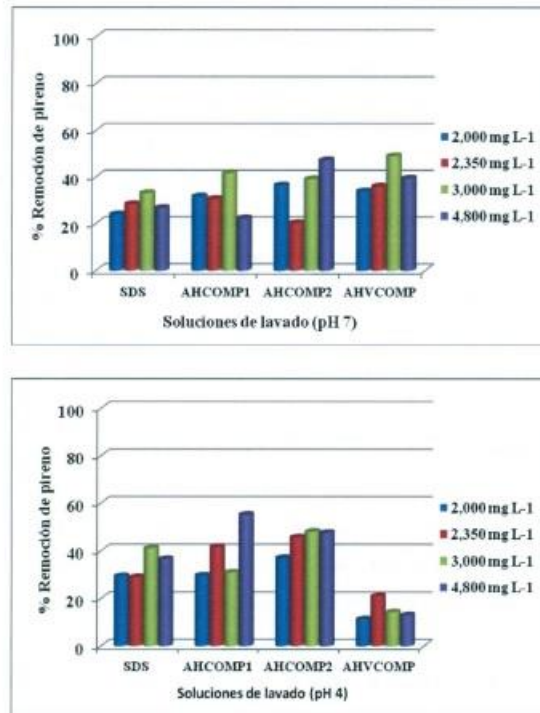


Figura 7.29 Lavado de suelo contaminado con pireno mediante diferentes concentraciones y medios de pH de ácidos húmicos y del dodecil sulfato de sodio (SDS).

De acuerdo a lo anterior, podemos notar que de los tres poliaromáticos, el pireno es el contaminante que menos fue removido por las soluciones de lavado y esto es congruente con el hecho de que la estructura molecular del pireno es más compleja, posiblemente con menor afinidad al surfactante y que cuenta además con un peso molecular mayor que los otros dos poliaromáticos lo que dificulta más su remoción.

De una forma global podemos decir que los porcentajes de remoción dependen del hidrocarburo, siendo mayores para el naftaleno y el antraceno. En términos generales se puede observar también que las condiciones de pH pueden afectar la extracción del contaminante, de manera que el naftaleno se extrae mejor a pH neutro, en tanto que el antraceno tiene buenos resultados a pH ácido y neutro. Asimismo, el cambio de pH del medio no mejora los porcentajes de remoción del pireno en solución.

Por otra parte, se observa que las soluciones de ácidos húmicos presentan resultados similares o aún mejores que los que se logran obtener con el surfactante sintético, lo cual permite vislumbrar la posibilidad de que los ácidos húmicos puedan ser considerados como una opción de surfactantes naturales para usarse en procesos de tratamiento de suelo, con la ventaja de que son materiales naturales además de que su permanencia puede ser benéfica para el suelo.

A pesar de que en los estudios de tensión superficial (Figura 7.9) se determinó que a pHs bajos se obtienen los menores valores de TS para soluciones de AHs, los mejores porcentajes de remoción no necesariamente se llevaron a cabo a pH bajos como pudiera esperarse. En este sentido, los resultados de lavado de los hidrocarburos poliaromáticos indican que puede haber una serie de factores, además de la tensión superficial, que pueden estar afectando de manera determinante el comportamiento del proceso, particularmente lo que se refiere al reordenamiento estructural del AH (expandimiento de la estructura molecular quedando expuestos grupos hidrofóbicos) facilitando el contacto de grupos hidrofóbicos con los contaminantes.

CAPITULO VIII

CONCLUSIONES

Las conclusiones generales de este proyecto se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Los ácidos húmicos obtenidos en compostas de lodos residuales AHCOMPI y AHCOMP2, así como los que se obtienen de la vermicomposta comercial AHVCOMP producen una disminución en la tensión superficial de soluciones acuosas (51 Dinascm⁻¹, 54 Dinascm⁻¹, y 66 Dinascm⁻¹ respectivamente), mostrando un efecto similar al surfactante sintético dodecil sulfato de sodio y a ácidos húmicos extraídos de suelo. De las muestras utilizadas, la que se obtuvo de las compostas de lodos AHCOMP 1 es la que presenta la mayor disminución en la tensión superficial, quedando al final la muestras AHVCOMP obtenida de la vermicomposta que presenta el menor efecto. La disminución en la tensión superficial tiene una relación con la estructura química de la molécula de ácido húmico, de manera que tanto la predominancia de una fracción alifática, así como un menor contenido de COOH genera una mayor disminución de la tensión superficial. En particular, los ácidos húmicos AHCOMP 1 que tienen una importante fracción alifática, así como el menor contenido de grupos COOH (1.59 meq g⁻¹) es la que presenta una mayor disminución de la tensión superficial.

El pH afecta de manera determinante los valores de tensión superficial obtenidos, ya que los menores valores se obtuvieron a pH entre 3 y 4 para todas las muestras de ácidos húmicos. La mayor disminución en la tensión superficial la presentó la muestra AHCOMPI (43 Dinascm⁻¹) obtenida de la composta de lodos.

- Los cambios en estas propiedades son relacionados con la estructura supramolecular de los ácidos húmicos, el contenido de grupos aromáticos, carboxílicos y fracciones alifáticas. Los resultados indican que los grupos carboxílicos juegan un papel crucial en la formación de agregados y estabilidad de la estructura supramolecular húmica, debido principalmente a las fuerzas dispersivas dando lugar a la expansión y contracción estructural y que este comportamiento es dependiente de la concentración del ácido húmico y su correspondiente pH del medio en que se encuentre.

- Las pruebas de cromatografía de exclusión molecular (CEM) indican que el pH y la presencia de cationes influye en los cambios estructurales moleculares de los ácidos húmicos provocando la contracción y expansión de la molécula mediante la protonación y deprotonación de los grupos funcionales, lo que se refleja en cambios de la tensión superficial. De igual manera, hay evidencia de que cuando se adicionan cationes a la solución de ácidos húmicos, ocurre un efecto de re arreglo intramolecular y con una mayor concentración del ion se genera otro efecto de arreglo ahora de manera intermolecular, dando lugar a la formación de nuevas estructuras húmicas con tamaños moleculares diferentes, lo que provoca las variaciones en la tensión superficial, siendo éstas más notorias en los cationes con mayor carga como en el caso del Fe^{3+} .
- Las pruebas de lavado de suelo muestran que los ácidos húmicos en estudio, son comparables e incluso en la mayoría de los casos mejores que el dodecil sulfato de sodio en cuanto a la remoción de poliaromáticos presentes en suelo. El contaminante con mayor remoción fue el naftaleno (90% a pH 7 empleando $3,000\text{ mg L}^{-1}$ de AHVCOMP), mientras que el pireno fue el poliaromático menos removido del suelo (50% a pH 4 empleando $4,800\text{ mg L}^{-1}$ de AHCOMPI) seguido por el antraceno (81% a pH 7 con $3,000\text{ mg L}^{-1}$ de AHVCOMP), esto de acuerdo a sus estructuras específicas. Las remociones de los contaminantes no fueron proporcionales con respecto al aumento en las concentraciones de las soluciones húmicas y del dodecil sulfato de sodio, fenómeno característico de los surfactantes sintéticos explicado como la adsorción y desorción de éstos sobre el suelo.

Se llevó a cabo la simulación de la molécula del ácido húmico a diferentes condiciones de pH observando cambios en la estructura y en el tamaño. Sin embargo, no se pudo encontrar una correlación directa con los resultados experimentales de cromatografía de exclusión molecular, ya que en esta última ocurre un efecto de agregación y desagregación molecular que no se consideró en la simulación.

De acuerdo con lo anterior, los ácidos húmicos obtenidos de lodos residuales composteados y vermicomposta, podrían ser clasificados como materiales potencialmente interesantes para su uso en la solubilización y eliminación de los contaminantes orgánicos presentes en el suelo.

CAPITULO IX

REFERENCIAS

Aranberri , I., Binks , B.P., Clint, J.H., Fletcher , P.D., (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. Revista Iberoamericana de Polímeros. 7, 584-591.

Angelova, B., Schmauder, H. P., (1999). Review article: Lipophilic compounds in biotechnology – interactions with cells and technological problems. Journal of Biotechnology. 67, 13 – 32.

Ayuso, M., Hernandez, T., Garcia, C., (1996). Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. Bioresour Technol. 57(3), 251-257

Barak, P., y Chen, Y., (1992). Eguivalent radii of humic macromolecules from acid-base titration. Soil Science. 154, 184- 195.

Bedair , H. M., y Al-Saad H. T., (1992). Dissolved and Particulate Adsorbed Hydrocarbons in Water of Shatt Al-Arab River, Iraq. Water, Air, Soil Pollution. 61, 397-408.

Berti, D., Randazzo, D., Briganti, F., Baglioni, P., Scozzafava, A., Gennaro, P., Galli, E., Bestetti, G., (2000). Direct micellar systems as a tool to improve the efficiency of aromatic substrate conversion for fine chemicals production. J. Inorg. Biochem. 79,103-108.

Berti, D., Randazzo, D., Briganti, F., Baglioni, P., Scozzafava, A., Gennaro, P., Galli, E., Bestetti, G., (2002). Nonionic micelles promote whole cell bioconversion of aromatic substrates in an aqueous environment. Langmuir. 78, 6015-6020.

Bidleman, T. F., Castleberry, A.A., Foreman, W. T., Zaransk M. T., y Wall, D. W., (1990). Petroleum Hydrocarbons in the Surface Water of Two Studies in the Southeastern United States. Est. Coast Shelf Science. 30, 91-109.

Briganti, F., Randazzo, D., Scozzafava, A., Berti, D., Baglioni, P., Gennaro, P., Galli, E., Bestetti, G., (1999). Characterization of the biological conversion of naphthalene to (+)-cis- (1R, 2S) – dihydronaphthalene in direct micellar systems. J. Mol. Catal. B. 7, 263-272.

Cameron, R. S., Thornton, B. K., Swift, R. S., Posner, A. M., (1974). Molecular weight and shape from sedimentation and diffusion measurements on fractionated humic acid. J. Soil Sci. 23, 342-350.

Campitelli, P., Velasco, M., y Ceppi, S., (2006). Chemical and physicochemical characteristics of humic acids extracted from compost, soil and amended soil. Talanta. 69, 1234-1239.

Casanova, M., (2006). Descripción y Propiedades de los Suelos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas.

Cassidy, D., Hudak, P., A. J., (2002). Microorganism selection and performance in bioslurry reactors treating PAH- contaminated soil. Environmental Technology. 23, 1033-1042.

Chappin, R. G., y Summerlin, L. R., (1988). Química. Publicaciones Cultural. México.

Chefetz, B., y Hatcher, P., (1998). Characterization of dissolved organic matter extracted from composted municipal solid waste. Soil Scienc Society Am., J. 62, 326-332

Cisneros, E., (2001). La Contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. Limusa, México, D.F.

Conte, P., Agretto, R., Spaccini, y Piccolo, A., (2005). Soil remediation: humic acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils. Environmental Pollution. 135, 515-522.

Corona, Ramírez, L., e Iturbe, Argüelles, R., (2005). Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ing. Inv. y Tec.* 4(2), 119-126.

Corona-Avenidaño, S., Alarcón-Angeles, G., Rosquete-Pina, G.A., Rojas-Hernández, A., Gutiérrez, A., Ramírez-Silva, M.T., Romero-Romo, M., Palomar-Pardavé, M., J Phys Chem B. 111 (7), 1640 (2007).

Cotler, H., Sotelo, J., Domínguez, M., Zorrilla, S., Cortina, y Quiñones, L., (2007). La conservación de suelos: un asunto de interés público. *Gaceta Ecológica*. 83, 5- 71. 2007.

Drozd, J., y Weber, (1996). The role of humic substances in the ecosystem and in environmental protection. Proc. 8 Meeting of the International Humic Substances Society.

Wroclaw.

Deschauer, H., Hartmann, R., Kogel-Knaber, I. and Zech, W., (1994). The influence of dissolved organic matter on the transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in a forest soil under Pinus sylvestris. In N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) Humic substances in the global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

Ehlers, L., y Luthy, R., (2003). Contaminant bioavailability in soil and sediment: improving risk assessment and remediation rests on better understanding bioavailability. Environ. Sci. Technol. 37, 295A-302A.

Engbretson, R., y Wandruszka, V., (1998). Kinetic aspects of cation-enhanced aggregation in aqueous humic acids. Environmental Science Technology. 32, 488.

Environmental Protection Agency – EPA, (2009). Detallada información a cerca de los contaminantes del suelo. <http://www.epa.gov/ebtpages/psoilcontaminants.html>

Ewis, (1999). Principios de biorrecuperación. 3era ed. Malaysia: Mac Graw Hill, 245-255.

FAO-ISRIC-ISSS, (2012). World reference base for soil resources. Rome. Disponible

en:

www.fao.org/docrep/W8594E/W8594EOO.htm Fecha de consulta: 19- 08- 2012.

Fong, S.S., Seng, W. N., Chong, J., Asing, M., y Pauzan, M., (2006). Characterization of the coal derived humic acids from Mukah, Sarawak as soil conditioner. Journal of Brazilian Chemistry Society. 17, 582-587.

Francioso, O., Sanchez, C. S., Casarini, D., Garcia, R. V., Ciavatta, C. and Gessa, C., (2002). Spectroscopic study of humic acids fractionated by means of tangential ultrafiltration. Journal of Molecular Structure. 609, (1-3), 137-147.

Foth, H. D., (1990). Soil science. Edt. Wiley 8th edition. New York.

Gallardo. J.f., (1980). El humus investigación y ciencia 46, 8-16

García, D., J. Cegarra, M.P., Bernal, y Navarro, A.F., (1993). Comparative evaluation of methods employing alkali and sodium pyrophosphate to extract humic substances from peat. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 24, 1481-1494.

Gamble, D. S., Can. J. Chem, 48, 2662.
(1970).

Gieguzynska, E., Kócmi, A., y Golebiewska, D., (1998). Studies on humic acids in eroded soils of Western Pomerania. In : Zaujec, A., Bielek, P., Gonet, S.S., (Eds.), Humic substances in ecosystems. Slovak agricultural university, Nitra, 35-41.

Guetzloff, T. F., y Rice, J. A., (1994). Does humic acid form a micelle?. The Science of the Total Environment. 152, 31-35.

Guo, Y., y Mulligan, C.N., (2006). Combined treatment of styrene-contaminated soil by rhamnolipid washing followed by anaerobic treatment. Chapter 1. In: R.C. Hudson, Editor, Hazardous Materials in Soil and Atmosphere, Nova Science Publishers, New York, 1-38.

Hillel, D., Rosenzweig, C., Powlson, D., Scow, K., Singer, M., y Sparks, D., (2004). Encyclopedia of soils in the environment. Academic Press; 1 edition., 149-163, 180-188.

INEGI, 2000. Suelos contaminados en México.

Instituto Nacional de Ecología . INE (2007). Tecnologías de remediación.

Jahnke, (2000). Surfactant- Assisted Soil Remediation. United States Patent. 6,090,896.

Juárez, B., y Rico, R., (2005). Mecánica de Suelos. Fundamentos de la Mecánica de Suelos. Vol. I, 3rd edn., Limusa, Mexico.

Khalladi, R., Benhabiles, O., Bentahar, F., y Moulai-Mostefa, N., (2009). Surfactant remediation of diesel polluted soil. Journal of Hazardous Materials. (164), 1179-1184.

Khil'ko, S. L., Kovtun, A. I., Fainerman, V. B., (2011). Effects of electrolyte and nonelectrolyte additives on adsorption and surface rheological characteristics of humic acid salt solutions. Colloid Journal, 73, (1) 10-117.

Kim, I.S., Park, J. S., Kim, K. W., (2001). Enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons using non-ionic surfactants in soil slurry. Appl.Geochem.16, 1419-1428.

Klavins M., Purmalis O. (2010). Humic substances as surfactants. Environmental Chemistry Letters. 8, 349-354.

Lambe,whitman., (2006). Mecánica De Suelos. Edt. Limusa: 2da edición México D. F.

Li, J.L., Chen, B.H., (2002). Solubilization of model polycyclic aromatic hydrocarbons by nonionic surfactants. Chem. Eng. Sci. 57, 2825-2835.

Lee, J.F., Liao, P.M., Kuo, C.C., Yang, H.T., y Chiou C.T., (2000). Influence of a non ionic surfactant (Triton X-100) on a contaminant distribution between water and several soil solids. J. Colloid. Interf. Sci. 229, 445-452.

López J., Iturbe, R., y Torres, L.G., (2004). Washing of soil contaminated with PAHs and heavy petroleum fractions using two nonionic and one ionic surfactant: Effect of salt addition: Journal of Environmental Science and Health, Part A- Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering. A39 (9) 2293-2306.

Martínez, E., y López S. F., (2000). Efecto de Hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de Suelo Arcilloso. Instituto Mexicano del Petróleo, Laboratorio de Remedación de Suelos. México, Distrito Federal.

MacCarthy, P., (2001). The principies ofhumic substances. Soil Science. 166, 738-

751. Miertus, S., Scrocco E., Tomasi, J., *J Chem, Phys.* 55, 117 (1981).

McBride, M. B., (1994). Environmental Chemistry ofSoils. New York Oxford. USA.

Mcmillen, S.J., Kerr, J.M., y Nakles, D.V., (2001). Composition of Crude Oils and Gas Condensates. En: Mcmillen, S.J., Magaw, R.I., and Carovillano, R.L.(eds), 2001.- Risk-Based Decisión-Making for Assessing Petroleum Impacts at Exploration and Production Sites. Chevron Research and Technology Company, CH2m Hill. US, 46-57.

Menichini y Bocea, (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbons: Identity, physical and chemical properties, analytical methods (ISTISAN).

Menzie, C. A., Potocki, B., y Santodonato, J., (1992). Exposure to Carcinogenic Poycyclic

Hydrocarbons in the Environment. Environmental Science & Technology. 26, 1278-1284.

Moraga, (2003). Remediación de Sitios Contaminados. Genetic fingerprinting of microbial communities-present status and future perspectives. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology, Canada.

Mulligan, CN., Yong, R.N. y Gibas, BF., (2001). Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. Eng. Geol. 60, 371-380.

Mulligan, CN., (2005) . Environmental application for biosurfactants. Environmental Pollution. 133, 183-198.

Mulligan, CN., (2009). Recent advances in the environmental application of biosurfactant. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 14, 372-378.

Orlov, D. S., (1995). Humic substances in soils and general theory of humification. Russian translations series III. A. A. Balkema/Rotherdam/Brookfield.

Paria, S., (2008). Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water. Adv. Colloid Interface Sci. 138, 24-58

Perdue, E.M., (1985). Acidic functional groups in humic substances. In: Aiken, G.R., McKnight, D. R., Wershaw, R. L., & MacCarthy, P.C., (Eds.), Humic Substances in Soil, Sediment and Water. Wiley-Interscience, New York, 493-526.

PEMEX, (1988). El Petróleo. Gerencia de Información y Relaciones Públicas. México.

Piccolo, A., Nardi, S., y Concheri, G., (1996). Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. Chemosphere. 33, 595-602.

Posner, A. M., J. Soil Sci., 17, 65 (1996).

PROFEPA, (1999). Información estadística sobre emergencias ambientales asociadas con materiales y residuos peligrosos en México.