

## CARACTERIZACIÓN DE ACIDOS FÚLVICOS Y ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE UNA TURBERA MINEROTRÓFICA

M. Izquierdo; J. Antelo; S. Fio; D. Gondar; A. Iglesias; R. López; F. Arce\*

Departamento de Química Física. Facultad de Química. Universidad de Santiago de Compostela. E15782 Santiago de Compostela. Spain. \*florencio.arce@usc.es

**Abstract:** Fulvic acids (FA) and humic acids (HA) were extracted from two horizons of a minerotrophic peat bog in Galicia (NW Spain). The samples were characterized and their acid base properties studied with the techniques commonly used for this type of determinations: UV-Vis, FT-IR, <sup>13</sup>C NMR spectroscopies, elemental analysis and potentiometric titrations.

**Key words:** peat bog, fulvic acids, humic acids, acid properties, NICA model

**Resumen:** Se extrajeron los ácidos fúlvicos (AF) y los ácidos húmicos (AH), de dos horizontes de una turbera minerotrófica de Galicia (NW Spain). Se caracterizaron las muestras y se estudiaron sus propiedades ácido base recurriendo a las técnicas empleadas para este tipo de determinaciones: espectroscopias UV-vis, FTIR, RMN de <sup>13</sup>C, análisis elemental y valoraciones potenciométricas.

**Palabras clave:** turbera, perfil, horizonte, modelo NICA.

### INTRODUCCIÓN

Las turberas constituyen una mezcla de material heterogéneo que se acumula en ambientes saturados de agua y deficitarios en oxígeno. Pueden estar formadas por restos vegetales muertos sin apenas descomposición o por una masa amorfa finamente coloidal con proporciones variables de C, H, O, N, S y P, dependiendo de la vegetación y del grado de descomposición (Pontevedra-Pombal, 2002). Estos ecosistemas están considerados como una de las mayores reservas de C orgánico, solamente superada por los yacimientos petrolíferos.

En una turbera, aproximadamente el 80% en peso es agua y el 20% restante corresponde al residuo sólido. De esta fracción sólida el mayor porcentaje, cerca del 90%, está consti-

tuido por materia orgánica (Tipping, 2002). La mayoría de la información que existe sobre las turberas indica que éstas contienen una gran proporción de ácidos húmicos, aunque ocasionalmente, se ha encontrado que la materia húmica de las turberas está compuesta por ácidos fúlvicos mayoritariamente (Tan, 2003).

### CARACTERIZACIÓN DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS

#### Análisis elemental

El análisis elemental es una herramienta empleada con frecuencia en la caracterización de las sustancias húmicas (SH) y proporciona información sobre la distribución de los elementos mayoritarios, C, H, O, N y S. Es de esperar que factores como temperatura, pH del suelo, tipo de roca, vegetación y edad del suelo

influyan en la composición de las SH por lo que la composición elemental puede emplearse para diferenciar entre sustancias húmicas de diferentes orígenes (Senesi y Loffredo, 1999).

Es frecuente también encontrar en la bibliografía referencia a las relaciones atómicas H/C y O/C y en ocasiones también N/C. Dichas relaciones pueden resultar útiles para identificar tipos de SH, monitorizar cambios estructurales y determinar fórmulas estructurales para dichas sustancias (Senesi y Loffredo, 1999).

#### **Espectroscopia UV-VISIBLE**

Un parámetro frecuentemente empleado en la caracterización de las sustancias húmicas es la relación entre las absorbancias a 465 y 665 nm, conocida como relación  $E_4/E_6$ . Esta relación suele tener un valor menor de cinco en los AH (3,0-5,0) y mayor de cinco en los AF (6,0-8,5) (Stevenson, 1994). El procedimiento para su determinación fue descrito por Chen *et al.* (1977). Según Kononova (1996) existe una relación inversa entre la relación  $E_4/E_6$  y el grado de condensación aromática en las SH, por lo que puede emplearse como un índice de humificación:  $E_4/E_6$  bajo indica alto grado de condensación de los componentes aromáticos mientras que un valor bajo es característico de un alto grado de condensación aromática e indica la presencia de proporciones relativamente altas de estructuras alifáticas. Puede establecerse una relación inversa entre la relación  $E_4/E_6$  y el tiempo medio de residencia del material húmico (Stevenson, 1994); al material con mayor valor de  $E_4/E_6$  le corresponde menor tiempo de residencia, indicando que las sustancias más humificadas y condensadas tienen un origen más antiguo.

#### **Espectroscopia FT-IR**

La región más interesante de los espectros de IR de las moléculas orgánicas es la comprendida entre 4000 y 400  $\text{cm}^{-1}$ . En esta región se encuentran las principales bandas de vibración de los diferentes grupos que forman las

moléculas de las HS. En general, puede decirse que los espectros de IR de las sustancias húmicas se caracterizan por su simplicidad y por su parecido (Senesi y Loffredo, 1999).

De todas las bandas que se observan en los espectros de IR de las sustancias húmicas, se suelen escoger las atribuidas a los grupos funcionales más significativos para analizar relaciones entre intensidades y buscar diferencias en composición y reactividad química. Dichas bandas son las que aparecen a 1720  $\text{cm}^{-1}$ , 1620  $\text{cm}^{-1}$ , 1380  $\text{cm}^{-1}$  y 1220  $\text{cm}^{-1}$  (Niemeyer *et al.*, 1992). La relación I1380/1620 se ha empleado con frecuencia para la caracterización de las sustancias húmicas, encontrándose que dicha relación aumenta con el carácter aromático y al disminuir la relación O/C (Johnston *et al.*, 1991). Esta variación indica que la banda a 1380  $\text{cm}^{-1}$  tiene una clara contribución de C aromáticos mientras que a 1620  $\text{cm}^{-1}$  predomina la contribución del grupo carboxilato.

#### **Espectroscopia de RMN de $^{13}\text{C}$**

Esta técnica se aplica a la muestra sólida, con lo que se evita el problema de la poca solubilidad de algunas SH. La calidad de los espectros que se obtiene mediante espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  se ha visto notablemente mejorada cuando se combina con la técnica de Cross-Polarization (CP) y Magic Angle Spinning (MAS) (Senesi y Loffredo, 1999). Los espectros típicos de las SH de suelos presentan varias regiones, correspondientes a clases químicas específicas. A pesar de que los espectros típicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS en estado sólido están formados por bandas anchas, la mayor parte de las bandas correspondientes a los distintos tipos de C presentes en la muestra están bien resueltas. Los grupos químicos específicos del C se distribuyen en el espectro según las siguientes regiones: C que forma parte de cadenas alifáticas insaturadas (0-45 ppm), C alifáticos unidos a átomos de O (45-110 ppm), C constituyente de grupos fenólicos (140-160 ppm), C carbonílico de grupos car-

boxílicos, ésteres y amidas (160-185 ppm) y C de grupos carbonilo de aldehidos y cetonas (185-220 ppm), si bien estos intervalos pueden variar ligeramente de unas muestras a otras (Kaiser *et al.*, 2003).

**Valoración potenciométrica de las SH**

Es sabido que las SH tienen un carácter ácido débil, lo que hace que contribuyan a la capacidad tampón del medio en el que se encuentran. El estudio de los equilibrios ácido-base de las SH es, pues, importante tanto desde el punto de vista de su caracterización como para la determinación del contenido y tipo de grupos ácidos que las constituyen (MacCarthy, 2001). Se ha comprobado que la movilidad de iones metálicos en suelos es consecuencia, en gran medida, de la formación de complejos estables a través de los grupos ionizados. Por ello, las valoraciones potenciométricas de las SH son una herramienta muy utilizada para la determinación de los grupos ácidos que pueden participar en procesos de adsorción. En las SH, los dos tipos de grupos ácidos considerados como principales son los carboxílicos y los fenólicos. El contenido en dichos grupos ácidos puede determinarse directamente a partir de las curvas de carga  $Q(\text{mol Kg}^{-1})$ -pH. Para ello, se considera que a pH 8 la carga es debida a la ionización de grupos ácidos carboxílicos y, ante la dificultad que entraña el llegar a pH 12 con este tipo de técnica, se determina el contenido en grupos fenólicos como el doble de la diferencia entre los grupos ácidos ionizados a pH 10 y los ionizados a pH 8 (Ritchie y Perdue, 2003).

De forma algo más rigurosa se puede aplicar un modelo para la determinación de las constantes de ionización, así como de la abundancia de los grupos ácidos considerados. En los últimos años, un modelo de distribución continua, el modelo NICA (Koopal *et al.*, 1994) (Non-Ideal Competitive Adsorption), ha sido ampliamente utilizado para describir la complejación de iones con las SH. Dicho modelo

ha sido comprobado con gran cantidad de datos experimentales obtenidos para una gran variedad de sustancias húmicas de diferentes orígenes. Como resultado de estos estudios se han publicado recopilaciones de valores genéricos de parámetros que describen el comportamiento ácido-base y la complejación con metales de las SH [Milne *et al.*, 2001; Milne *et al.*, 2003).

$$Q_H = Q_{\max 1,H} \frac{(K_{H,1} [H^+])^{n_1}}{1 + (K_{H,1} [H^+])^{n_1}} + Q_{\max 2,H} \frac{(K_{H,2} [H^+])^{n_2}}{1 + (K_{H,2} [H^+])^{n_2}}$$

La ecuación del modelo NICA da la concentración ( $\text{mol Kg}^{-1}$ ) de protones enlazados como: donde los subíndices 1 y 2 indican los dos tipos de posiciones (grupos carboxílicos y grupos fenólicos) que se consideran,  $Q_{\max}$  es el número de posiciones disponibles para intercambio protónico en cada una de las distribuciones,  $K_H$  es el valor medio de las distribuciones de afinidad para protones y  $m$  representa la anchura de la distribución y es una medida de la heterogeneidad aparente de la sustancia húmica.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Las muestras de AH y AF se extrajeron de una turbera minerotrófica situada a 770 m de altura en el nacimiento del río Eume (Galicia, NO España) y que corresponde a una depresión con vegetación de brezal de ericáceas. Para la realización del presente estudio se tomaron muestras de un horizonte superficial y de otro situado a mayor profundidad. Para referirnos a cada una de las muestras usaremos la siguiente nomenclatura: AFEH1 y AHEH1 para designar al AF y al AH del horizonte superficial (10-60 cm), respectivamente, y AFEH2 y AHEH2 para el AF y AH del horizonte inferior (60-120 cm). La descripción y características generales de la turbera han sido recientemente descritas (Guía de itinerarios, 2001).

Los AF y AH se extrajeron siguiendo el procedimiento recomendado por la IHSS para

suelos (Swift, 1996) y para llevar a cabo su caracterización resulta necesario recurrir a diversas técnicas que nos permitan establecer las diferencias entre las dos fracciones de las SH y analizar la posible variación de algunas de sus propiedades con la profundidad.

El análisis elemental (C, O, H, N, S) de las muestras de AF y AH se realizó con un analizador EA 1108 (Fisons Instruments). Los valores se calcularon para la muestra seca y libre de cenizas y son la media de tres determinaciones.

Las absorbancias a 465 y 665 nm necesarias para determinar el valor de la relación E4/E6 se determinaron con un espectrofotómetro de UV-visible JASCO V-530.

También se realizó el espectro de IR de las muestras sólidas en la región 4000-400 cm<sup>-1</sup> en pastillas de KBr al 1% con un espectrofotómetro MIDAC FTIR-1200 para confirmar la presencia de los picos principales asociados a las SH y se compararon las relaciones entre las intensidades de los principales picos.

Se realizaron los espectros de RMN de <sup>13</sup>C para la muestra sólida con un espectrómetro BRUKER AMX-300 a una frecuencia de resonancia de 75,5 MHz empleando un rotor de

zirconio de 7,5 mm y la técnica Cross-Polarization Magic-Angle Spinning (CP-MAS) con un programa de pulsos cp21ev y una velocidad de rotación de 4,0 MHz. Los espectros se obtuvieron para un tiempo de contacto de 1000 μs y tiempo de relajación de 5 s, con una anchura de la banda espectral de 25 MHz y a temperatura ambiente con un mínimo de 24000 barridos, empleando como referencia externa la resonancia de la glicina a 176 ppm.

Finalmente, se valoraron potenciométricamente 50 ml de disolución de AF y AH de concentración 50 mg/L preparadas en KNO<sub>3</sub> 0,1 M. Las valoraciones se realizaron de forma automatizada usando un electrodo de vidrio combinado Radiometer GK2401C, un pHmetro Crison micropH 2002, y una microbureta Crison microBu 2030 con jeringa de 1 ml para realizar las adiciones de la disolución valorante (KOH 0,02 M). La temperatura se mantuvo constante a 25°C y en todo momento se trabajó en atmósfera de N<sub>2</sub>. Se pueden encontrar más detalles sobre el procedimiento experimental de las valoraciones potenciométricas de las SH en algunos trabajos previos (Fiol *et al.*, 1999; López *et al.*, 2003).

TABLA 1. Rendimiento de la extracción y contenido en sustancias húmicas. (\*Guía de itinerarios, 2001)

Horizonte	%MO* (suelo seco)	AF (g/Kg suelo)	AH (g/Kg suelo)	Relación AH/AF	%SH
Superficial	86,65	0,53	130,10	247,81	11,32
Profundo	78,46	0,41	94,67	232,21	7,46

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de la extracción y contenido en materia orgánica

En primer lugar y una vez realizada la extracción de las sustancias húmicas, se determinó el rendimiento de la misma y, teniendo en cuenta el contenido en materia orgánica (MO) de cada horizonte (Guía de itinerarios, 2001), se calculó el porcentaje de SH como la suma

de AF and AH (Tabla 1). Cuando calculamos de esta forma el contenido en SH se obtienen valores bajos, lo cual hace suponer que el mayor porcentaje de MO corresponderá a la fracción insoluble, es decir, la humina, que no ha sido aislada para el presente trabajo. Al determinar la relación AH/AF se aprecia que la cantidad de AH es considerablemente mayor

que la de AF (Gondar *et al.*, 2005).

**Análisis elemental**

Los resultados correspondientes al análisis elemental (Tabla 2) muestran que la composición de las SH está dentro del intervalo típico encontrado para las turberas (Rice y MacCarthy, 1991).

Los AH presentan mayor contenido en C y menor contenido en O que los AF, lo cual está

de acuerdo con análisis estadísticos realizados sobre un elevado número de muestras que se recogen en la bibliografía (Gondar *et al.*, 2005; Rice y MacCarthy, 1991; López *et al.*, 2008). En los AF se observa un aumento del contenido en C y O y una disminución del contenido en H a medida que aumenta la profundidad. En el caso de los AH se observa aumento en el contenido de C e H y una disminución en el contenido en O al aumentar la profundidad

TABLA 2. Análisis elemental de las muestras y comparación con valores típicos para turberas (\*Rice y MacCarthy, 1991)

Muestra	%C	%O	%H	%N	%S
AFEH1	50,78	41,48	5,23	2,09	0,42
AFEH2	51,66	41,79	4,82	1,20	0,53
AHEH1	55,45	36,17	5,41	2,50	0,46
AHEH2	57,07	34,53	5,57	2,25	0,58
*AF típico de turbera	54,2 (46,9-60,8)	37,8 (31,1-44,3)	5,3 (4,2-7,2)	2,0 (1,2-2,6)	0,8 (0,2-1,9)
*AH típico de turbera	57,1 (50,53-62,75)	35,2 (30,68-43,20)	5,0 (3,6-6,57)	2,8 (0,60-3,9)	0,4 (0,1-0,7)

Las relaciones atómicas O/C y H/C son parámetros que suelen emplearse para caracterizar distintos tipos de sustancias húmicas, para monitorizar cambios estructurales y dilucidar fórmulas estructurales de las SH (Senesi y Loffredo, 1999). El valor de la relación O/C obtenido para las muestras de AF del presente trabajo (Tabla 3) está ligeramente por encima del valor medio determinado para otros AF de turbera y por debajo del valor medio observado en suelos. Para los AH, sin embargo, el valor de la relación O/C oscila alrededor del valor medio esperado (0,47). La relación H/C de los AF estudiados muestra un valor típico de AF de turberas (1,20) que está por debajo del valor observado en los AF de suelos (1,4). La relación H/C no presenta diferencias para las dos muestras de AH y resulta mínima en el caso de

los AF, por lo que no parece que dichas relaciones puedan ser decisivas a la hora de diferenciar entre las SH procedentes de los dos horizontes.

**UV-visible**

Se determinó el valor de la relación entre las absorbancias a 465 y 665 nm (Tabla 3). Se ha observado que el AF del horizonte superficial presenta un valor anormalmente bajo de esta relación, lo que lleva a su vez a que se produzca un aumento a medida que aumenta la profundidad. En general, debería observarse una disminución de este parámetro con la profundidad debido a la presencia de materiales más degradados, es decir, con un tiempo de residencia mayor, y así se observa para los dos AH.

TABLA 3. Relaciones atómicas calculadas a partir del análisis elemental y relación E4/E6 determinada a partir de medidas de absorbancia UV-visible. (\*Rice y MacCarthy, 1991)

Muestra	H/C	O/C	C/N	E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>
AFEH1	1,23	0,61	28,36	3,83
AFEH2	1,11	0,61	50,01	6,72
AHEH1	1,16	0,49	25,83	5,38
AHEH2	1,16	0,45	29,58	4,36
*AF típico de turbera	1,20 (0,85-1,84)	0,53 (0,38-0,71)		
*AH típico de turbera	1,04 (0,73-1,35)	0,47 (0,37-0,64)		

### Espectros de IR

A partir de la intensidad de los cuatro picos principales del espectro de IR de las sustancias húmicas analizadas en el presente trabajo y que corresponden a bandas típicas AF y AH de turberas, se determinaron las relaciones  $I_{1720/1620}$ ,  $I_{1720/1380}$ ,  $I_{1720/1220}$ ,  $I_{1380/1620}$  y  $I_{1380/1220}$  (Tabla 4).

La principal diferencia que se observa en los espectros de IR de AF y AH y que ha sido extensamente recogida en la bibliografía (Ste

venson, 1994) es la inversión en las bandas a 1720 y 1620  $\text{cm}^{-1}$ , indicando que los AF presentan un mayor contenido en grupos COOH. El hecho de que la banda a 1620  $\text{cm}^{-1}$  sea del mismo orden de magnitud o ligeramente mayor que la de 1720  $\text{cm}^{-1}$  para los AH puede ser consecuencia de la contribución combinada de los grupos carboxilato y de los grupos aromáticos C=C, que son más abundantes en dicha fracción de las SH.

TABLA 4. Relación entre las intensidades de las principales bandas del espectro de IR.

Muestra	$I_{1720/1620}$	$I_{1720/1380}$	$I_{1720/1220}$	$I_{1380/1620}$	$I_{1380/1220}$
AFEH1	1,44	1,86	1,36	0,77	0,73
AFEH2	1,40	1,75	1,33	0,80	0,76
AHEH1	0,94	1,23	1,07	0,76	0,87
AHEH2	0,94	1,14	1,04	0,83	0,92

A partir del valor de la relación  $I_{1720/1620}$ , parece que el contenido relativo en grupos carboxílicos es aproximadamente un 30-40% mayor en los AF que en los AH. La banda que aparece a 1380  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye, como se ha mencionado anteriormente, a la combinación de grupos fenólicos y grupos carboxilato, por lo que resulta lógico que la relación  $I_{1720/1380}$  sea significativamente mayor para los AF que para los AH. La relación  $I_{1720/1220}$  resulta aproximadamente un 20%

mayor para AF que para AH, lo cual hace pensar que hay una contribución apreciable de grupos carboxílicos a la intensidad de la banda a 1220  $\text{cm}^{-1}$ . La relación  $I_{1380/1620}$  resulta similar para fúlvicos y húmicos ya que se trata de las bandas correspondientes a los distintos modos de vibración del mismo grupo funcional, carboxilato. Los valores de dicha relación resultan, sin embargo, ligeramente mayores en los AF que en los AH ya que si bien la intensidad de la banda a 1380  $\text{cm}^{-1}$  es similar en ambas



fracciones, la intensidad de la banda a  $1620\text{ cm}^{-1}$  es significativamente mayor para los AH. Finalmente, la relación  $I_{1380/1220}$  es, en general, mayor para los AH que para los AF, lo cual puede ser el resultado combinado de un mayor contenido en carboxilatos ( $1380\text{ cm}^{-1}$ ) y menor en carboxílicos ( $1220\text{ cm}^{-1}$ ).

Para las muestras del presente trabajo se aprecia una relación inversa entre la relación  $I_{1380/1620}$  y la relación atómica O/C a medida que aumenta la profundidad, de forma que si un parámetro aumenta el otro disminuye. La relación con el carácter aromático resulta más difícil de establecer debido a que no existe una diferencia apreciable entre AH y AF.

### **Espectroscopia de RMN de $^{13}\text{C}$**

En la Figura 1 se muestran los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de las SH estudiadas, los cuales presentan características similares a las de otras muestras de SH de suelos de distinta naturaleza existentes en la bibliografía (Kaiser et al., 2003; Mills *et al.*, 1996). En general, todos los espectros son similares y presentan el mismo número de bandas, si bien se aprecia una diferencia significativa entre la región I y las demás regiones del espectro.

Los resultados de la integración de las distintas regiones del espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Tabla 5) muestran que los AF contienen una mayor proporción de  $\text{C}_{\text{carboxílico}}$  (región IV) así como menor contenido en C alifático unido a átomos de O (región II) y C aromático (región III) que sus respectivos AH. En cuanto a la comparación de los distintos horizontes, se observa, en general, poca variación con la profundidad, si bien podría decirse que se produce un aumento en el carácter aromático y el contenido en  $\text{C}_{\text{carboxílico}}$  a medida que se desciende en el perfil. Este último aspecto resulta algo más acusado en los AF que en los AH. A simple vista puede apreciarse, dentro de la región II, correspondiente al O-Califático, que aparecen dos picos, a 56 y 73 ppm, respectivamente. Para las muestras del perfil estudiado no existe

mucha diferencia entre los dos picos anteriormente mencionados. Observando los resultados de espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  se puede apreciar que, en conjunto, todas las muestras extraídas presentan gran homogeneidad en cuanto al porcentaje de los distintos tipos de carbono, ya que las diferencias entre las dos fracciones húmicas y con la profundidad son muy pequeñas.

A partir del espectro de RMN se puede determinar también el contenido en grupos ácidos, carboxílicos y fenólicos, de las SH (Mills *et al.*, 1996). Para calcular el contenido en grupos carboxílicos o en grupos con  $\text{C}_{\text{carboxílico}}$ , expresado en mol de  $\text{C}_{\text{carboxílico}}$  por Kg de muestra, hay que considerar el porcentaje de C total, determinado a partir del análisis elemental, expresado en mol de C por Kg de muestra y el porcentaje relativo de C de la región IV en el espectro de RMN. De forma análoga se determina la concentración de grupos fenólicos a partir del porcentaje relativo de  $\text{C}_{\text{fenólico}}$  (región IIIb) y del porcentaje total de C de la muestra. También se puede determinar el porcentaje de aromaticidad a partir de los datos de RMN de  $^{13}\text{C}$ , expresando el Caromático como el porcentaje de la suma del Califático (regiones I y II) y del Caromático (región III). Estos resultados se recogen en la Tabla 5.

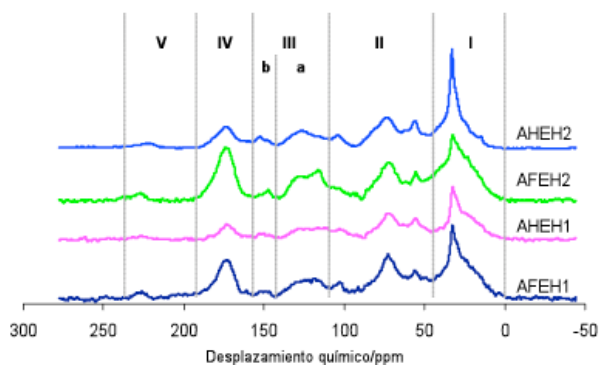


FIGURA 1. Espectros CP MAS  $^{13}\text{C}$  de los ácidos fúlvicos y ácidos húmicos extraídos de los dos horizontes de las turberas

### Valoraciones potenciométricas

En la Figura 2 se pueden ver las curvas de carga correspondientes a las muestras de las dos fracciones húmicas de la turbera estudiada.

Se observa una diferencia apreciable en cuanto a la carga que presentan los AF con res

pecto a la de los AH, debido al mayor contenido en grupos ácidos ionizables de los primeros. Tanto para la fracción húmica como para la fracción fúlvica se observa un aumento en la carga a medida que descendemos en el perfil.

TABLA 5. Abundancia relativa de los distintos tipos de C (%) a los que corresponde cada una de las regiones de integración del espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Muestra	I $\text{C}_{\text{alifático}}$	II $\text{O-C}_{\text{alifático}}$	III $\text{C}_{\text{aromático}}$	IIIb $\text{C}_{\text{fenólico}}$	IV $\text{C}_{\text{carbónico}}$	V $\text{C}_{\text{carbónico}}$
AFEH1	30	33	17	4	15	4
AFEH2	31	25	19	4	19	6
AHEH1	33	34	19	5	10	4
AHEH2	33	31	19	5	12	4

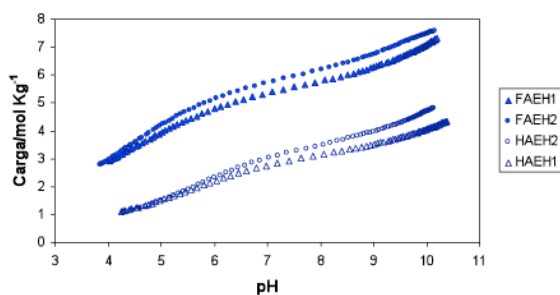


FIGURA 2. Curvas de carga los ácidos fúlvicos y ácidos húmicos extraídos de los dos horizontes de las turberas.



Las curvas de carga correspondientes a los dos AF muestran prácticamente el mismo valor inicial, para después comenzar a separarse y a partir de pH aproximadamente 7 se hacen paralelas. Un comportamiento similar se puede observar para los dos AH.

El contenido en grupos ácidos determinado mediante el ajuste de las curvas de carga aplicando el modelo NICA y usando el programa FIT (Kinniburgh, 1993), se recogen en la Tabla 6, en la cual se comparan, además, con los valores que se obtuvieron a partir del espectro de RMN de <sup>13</sup>C, como ya se ha visto en un apartado anterior.

En cuanto al contenido en grupos carboxílicos se observa, en todos los casos, que el valor obtenido a partir de RMN <sup>13</sup>C es mayor que el determinado mediante el ajuste de las curvas de carga utilizando el modelo NICA. Esto se debe a que en la región del espectro de RMN en la que se integra el Ccarboxílico se están considerando, además, grupos como ésteres y aminas, con lo cual resulta sobreesti-

mado el contenido en grupos carboxílicos. En cuanto a la tendencia que presenta el contenido en grupos carboxílicos, se puede ver que es la misma independientemente de la técnica utilizada para su estimación, es decir, se produce un aumento con la profundidad. En el contenido en grupos fenólicos, la diferencia entre los resultados de las dos técnicas no es, en general, tan acusada. De hecho, para el contenido en grupos fenólicos vemos que para los AF el mayor contenido se obtiene a partir de las valoraciones potenciométricas, mientras que para los AH es la espectroscopia RMN la que conduce a un valor mayor. Al igual que sucedía con el contenido en grupos carboxílicos, el contenido en grupos fenólicos también aumenta con la profundidad. Este aumento en el contenido en grupos ácidos a medida que aumenta la profundidad ya ha sido observado en muestras de gran variedad de suelos y turberas originadas en entornos climáticos diferentes (Gondar ET AL., 2005; López *et al.*, 2008).

Tabla 6. Comparación entre el contenido en grupos ácidos determinado por espectroscopia RMN de <sup>13</sup>C y a partir del análisis de las curvas de valoración de las SH.

Muestra	Grupos carboxílicos (mol Kg <sup>-1</sup> )		Grupos fenólicos (mol Kg <sup>-1</sup> )	
	RMN <sup>13</sup> C	Valoración	RMN <sup>13</sup> C	Valoración
AFEH1	6,41	5,98	1,58	2,49
AFEH2	8,24	5,23	1,87	2,61
AHEH1	4,60	3,17	2,23	1,39
AHEH2	5,64	3,61	2,39	1,65

REFERENCIAS.

Chen Y., Senesi N., Schnitzer M. (1977). Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 41, 352.

Fiol S., López R., Ramos A., Antelo J.M., Arce F. (1999). Study of the acid-base properties of three fulvic acids extracted from different horizons of a soil. *Anal. Chim. Acta* 385, 443-449.

Gondar D., López R., Fiol S., Antelo J.M., Arce F. (2005). Characterization and acid-base properties of fulvic and humic acids isolated from two horizons of an ombrotrophic peat-bog. *Geoderma*, 126, 367-374.

- Guía de itinerarios (2001). Suelos orgánicos: Perfil nº5 (Eume-Montouto), en: XXII Reunión Nacional de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo, Dpto. Edafología y Química Agrícola. Fac. Biología. Univ. Santiago de Compostela, Calvo R., Macías F. (coord.).
- Johnston C.T., Davis W.M., Erickson C., Delfino J.J., Cooper W.T. (1991). Characterization of humic substances using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, en: Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health, Senesi N., Miano T.M. (Eds.) *Elsevier Science B.V.*, Amsterdam.
- Kaiser E., Simpson A.J., Dria K.J., Sulzberger B., Hatcher P. (2003). Solid-state and multidimensional solution-state NRM of solid phase extracted and ultrafiltered riverine dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2929-2935.
- Kinniburgh D.G. (1993). Technical Report WD/93/23: FIT User Guide. *British Geological Survey*.
- Kononova M.M. (1996). Soil Organic Matter, 2ª edición, *Pergamon Press*, Oxford.
- Koopal L.K., van Riemsdijk W.H., de Wit J.C.M., Benedetti M.H. (1994). Analytical isotherm equations for multicomponent adsorption to heterogeneous surfaces. *J. Colloid Interface Sci. Technol.* 166, 51-60.
- López R., Fiol S., Antelo J.M., Arce F. (2003). Analysis of the effect of concentration on the acid-base properties of soil fulvic acid. Conformational changes. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 226, 1-8.
- López R., Gondar D., Iglesias A., Fiol S., Antelo J., Arce F. (2008). Acid properties of fulvic and humic acids isolated from two acid forest soils under different vegetation over and soil depth. *Eur. J. Soil Sci.*, 59, 892-899.
- MacCarthy P. (2001). The principles of humic substances. *Soil Sci.* 166, 738-751.
- Mills M.S., Thurman E.M., Ertel J., Thorn K.A. (1996). Organic Geochemistry and Sources of Natural Foams, en: Humic and fulvic acids. Isolation, structure and environmental role. J.S. Gaffney, N.A. Marley, S.B. Clark (Eds.), *ACS Symposium Series* 651.
- Milne C.J., Kinniburgh D.G., Tipping E. (2001). Generic NICA-Donnan parameters for proton binding by humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 35, 2049-2059.
- Milne J.C., Kinniburgh D.G., van Riemsdijk W.H., Tipping E. (2003). Generic NICA-Donnan parameters for metal-ion binding by humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 37, 958-971.
- Niemeyer J., Chen Y., Bollag J.-M. (1992). Characterization of humic acid, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 135-140.
- Pontevedra-Pombal, X. (2002). Turberas de montaña de Galicia. Génesis, propiedades y su aplicación como registros ambientales geoquímicos, Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Edafología y Química Agrícola.
- Rice J.A., MacCarthy P. (1991). Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Org. Geochem.* 17, 635-648.
- Ritchie J.D., Perdue E.M. (2003). Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 67, 85-96.
- Senesi, N., Loffredo, E. (1999). The Chemistry of Soil Organic Matter, en: *Soil Physical Chemistry*, 2ª edición, Sparks,

- D.L. (Ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Stevenson F.J. (1994). Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions. 2ª edición, *John Wiley & Sons*, Nueva York.
- Swift R.S. (1996). Organic Matter Characterization, en: *Methods of Soils Analysis: Part 3. Chemical Methods*, Sparks D.L. et al (Eds.), *SSSA Book Series: 5. Soil Science Society of America*, Madison, WI, pp 1018-1020.
- Tan, K.H. (2003). Humic Matter in Soil and Environment. Principles and Controversies. *Marcel Dekker, Inc*, Nueva York.
- Tipping E. (2002). Cation binding by humic substances. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK.