

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE QUÍMICA**



**“CARACTERIZACIÓN GEOQUÍMICA DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS  
DE LIGNITOS DE LA FORMACIÓN URUMACO, ESTADO FALCÓN, VENEZUELA”**

Trabajo Especial de Grado  
presentado ante la ilustre  
Universidad Central de Venezuela,  
por la TSU Fernanda Oduber,  
como requisito para optar al título  
de Licenciada en Química

Caracas, Octubre de 2013

Yo Profesor Grony Garbán Investigador del Laboratorio de Geoquímica Orgánica del Instituto de Ciencias de la Tierra de la Universidad Central de Venezuela. Certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

**“CARACTERIZACIÓN GEOQUÍMICA DE LAS SUSTANCIAS HÚMICAS EXTRAÍDAS DE LIGNITOS DE LA FORMACIÓN URUMACO, ESTADO FALCÓN, VENEZUELA”**

Que presenta la T.S.U. Fernanda Oduber, para aspirar al título de Licenciada en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Geoquímica Orgánica del Instituto de Ciencias de la Tierra de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante el año 2013, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, octubre de 2013.

---

Prof. Grony Garbán

Tutor

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: "Caracterización geoquímica de las sustancias húmicas extraídas de lignitos de la Formación Urumaco, estado Falcón, Venezuela". Presentado por la T.S.U. Fernanda Oduber, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

---

Prof. Grony Garbán

Tutor

---

Profa. Rosa Amaro

Jurado

---

Prof. William Melendez

Jurado

A mis padres, por su apoyo  
y amor incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar a mis padres, Ana y Fernando, por apoyarme en cada una de mis decisiones, y darme las herramientas necesarias para cumplir cada una de mis metas, por ayudarme a ser una mejor persona cada día y darme el mejor ejemplo de perseverancia, honestidad y profesionalismo. A mis hermanos, Alejandra, Fernando y Alonso, por su apoyo incondicional.

A mi esposo, Rafael, por estar siempre a mi lado, en los buenos y no tan buenos momentos, por siempre darme el apoyo necesario para seguir adelante, por brindarme siempre su amor y comprensión.

A la Universidad Central de Venezuela y a la Facultad de Ciencias, por darme la oportunidad de ser parte de esta durante todos estos años y crecer personal y profesionalmente.

A mi tutor, el Prof. Grony Garbán, por sus consejos y asesoramiento en todo momento, por permitirme crecer a nivel profesional y transmitirme los conocimientos necesarios para el desarrollo exitoso de este trabajo.

A todo el personal del Instituto de Ciencias de la Tierra por permitirme formar parte de esta gran familia durante los últimos 5 años y compartir con ustedes todos mis logros, tanto profesionales como personales. A Luis, Fernando, Ángel y Franco por ser más que compañeros de trabajo y convertirse en grandes amigos. Al Prof. William por darme la oportunidad de unirme a este hermoso grupo de trabajo hace 5 años. Al Prof. Ramón por darme todo su apoyo y confiar en mí como profesional. A los profesores Santiago, Manuel, Carlos, en fin, a todo el personal docente del ICT, con los que he logrado desarrollar una gran amistad.

Al personal del IDEA, en especial a Yulisa, por colaborar conmigo en la realización de este trabajo. A todos mis amigos del IUT que en los momentos difíciles me dieron palabras de aliento.

## RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la caracterización geoquímica de las sustancias húmicas extraídas de lignitos de la Formación Urumaco, estado Falcón, Venezuela, con la finalidad de determinar el contenido de compuestos parcialmente tóxicos, específicamente compuestos fenólicos, en las sustancias húmicas provenientes de dos muestras de lignito. Para ello se evaluó, primeramente, el rango de madurez de dos muestras de lignito identificadas como FU-CAR y FUP-1, a través de la determinación del % humedad, %Cenizas, % azufre total, % materia volátil, % carbono total, % carbono fijo y el rango relativo de oxidación, obteniendo que la muestra FUP-1 se clasifica como un carbón de sub-bituminoso a lignítico y la muestra FU-CAR como un carbón del tipo lignítico altamente meteorizado. Ambas muestras se encontraban altamente oxidadas.

Posteriormente, se extrajeron y cuantificaron las sustancias húmicas de las dos muestras de lignito, observando un incremento del contenido de los ácidos húmicos en la muestra FU-CAR con respecto a la muestra FUP-1. Los ácidos húmicos y fúlvicos fueron caracterizados mediante la determinación de % carbono total, el análisis de Infrarrojo con Transformada de Fourier, Espectrometría de absorción en el Ultra Violeta y el Visible, acidez total y grupo carboxílico. Se observó que el % carbono total es mayor en las fracciones de ácido húmico que en la de ácidos fúlvicos, para ambas muestras. El análisis de Infrarrojo con Transformada de Fourier indica que la muestra FU-CAR presenta un mayor contenido de los grupos carbonilos, fenólicos, grupos OH o presencia de agua y una menor proporción de las estructuras alifáticas, en comparación con la muestra FUP-1. El análisis de Espectrometría de absorción en el Ultra Violeta y el Visible estableció que el tamaño molecular y el grado de condensación de los ácidos húmicos son mayor que para los ácidos fúlvicos en ambas muestras. Se observó un aumento en la acidez total, fenólica y carboxílica, en las fracciones de ácidos húmicos de la muestra FU-CAR, en comparación con las correspondientes de la muestra FUP-1.

Por último, se identificaron y cuantificaron los ácidos gálico, salicílico y la vainillina, en las fracciones de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos de ambas muestras, a través de la técnica de Cromatografía Líquida de alta eficacia, donde se encontró que los ácidos húmicos y fúlvicos son iguales basados en su composición cualitativa; sin embargo, en su composición cuantitativa, hay un mayor contenido de estructuras fenólicas en las fracciones de los ácidos fúlvicos que en las fracciones de los ácidos húmicos.

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	1
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	4
2.1. Objetivo general.....	4
2.2. Objetivos específicos.....	4
<b>3. MARCO TEÓRICO.....</b>	5
3.1. Fertilizantes.....	5
3.2. Materia Orgánica (MO) y Sustancias Húmicas (SH).....	6
3.3. Aplicación de las Sustancias Húmicas como medios fertilizantes.....	9
3.4. Extracción de sustancias húmicas.....	9
3.4.1. Extractantes fuertes.....	10
3.4.2. Extractantes medios.....	11
3.4.3. Extractantes suaves.....	11
3.5. Carbón.....	12
3.5.1 Clasificación del carbón.....	15
3.6. Compuestos fenólicos en las Sustancias Húmicas.....	19
3.7. Técnicas de Análisis para caracterizar los Ácidos Húmicos y los Ácidos Fúlvicos.....	21
3.7.1. Cromatografía Líquida de alta eficacia (HPLC).....	22
3.7.2. Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT- IR).....	23
3.7.3. Espectrometría de absorción Ultravioleta-Visible (UV-Vis).....	24
<b>4. ANTECEDENTES.....</b>	27
<b>5. ZONA DE ESTUDIO.....</b>	32
5.1. Descripción litológica.....	33
<b>6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....</b>	38



6.1. Toma de muestra.....	38
6.2. Análisis de las muestras.....	39
6.2.1. Análisis inmediato.....	39
6.2.1.1. Humedad (ASTM D-3173).....	40
6.2.1.2. Cenizas (ASTM D-3174).....	40
6.2.1.3. Materia Volátil (ASTM D-3175).....	41
6.2.1.4. Azufre Total (%S).....	41
6.2.1.5. Carbono Total (%C.T.).....	42
6.2.1.5. Determinación del grado relativo de oxidación (ASTM D-5263).....	43
6.2.2. Extracción de las sustancias húmicas.....	44
6.2.3. Análisis químico de los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos.....	50
6.2.3.1. Análisis con FT-IR.....	50
6.2.3.2. Análisis con UV-Vis.....	51
6.2.3.3. Determinación de la acidez total y del grupo carboxílico.....	52
6.2.3.4. Extracción, Identificación y cuantificación de fenoles por HPLC.....	53
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>55</b>
7.1. Análisis inmediato.....	55
7.2. Extracción de las sustancias húmicas.....	56
7.3. Análisis químico de los ácidos húmicos y fúlvicos.....	58
7.3.1. Análisis elemental.....	58
7.3.2. Análisis con FT-IR.....	59
7.3.3. Análisis con UV-Vis.....	64
7.3.4. Determinación de acidez total y grupos carboxílicos.....	66
7.3.5. Identificación y cuantificación de fenoles por HPLC.....	67

<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>9. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>79</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>80</b>
<b>11. ANEXOS.....</b>	<b>88</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

		<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b>	Modelo de la estructura de los ácidos húmicos propuesta por Stevenson.....	7
<b>Figura 2.</b>	Modelo de la estructura de los ácidos fúlvicos propuesta por Buffie.....	8
<b>Figura 3.</b>	Evolución de la materia orgánica.....	14
<b>Figura 4.</b>	Diagrama de Van Krevelen para la clasificación del carbón.....	18
<b>Figura 5.</b>	Representación de la fórmula estructural del fenol.....	20
<b>Figura 6.</b>	Instrumentación general de un equipo de Cromatografía de alta eficacia.....	22
<b>Figura 7.</b>	Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier de un solo haz.....	24
<b>Figura 8.</b>	Espectrofotómetro de haz sencillo.....	25
<b>Figura 9.</b>	Ubicación de la zona de estudio.....	33
<b>Figura 10.</b>	Columnas estratigráficas en el área de Urumaco.....	37
<b>Figura 11.</b>	Ubicación del punto de muestreo.....	38
<b>Figura 12.</b>	Esquema del procedimiento experimental para análisis inmediato.....	39
<b>Figura 13.</b>	Analizador elemental LECO SC-432.....	42
<b>Figura 14.</b>	Analizador elemental LECO C-144.....	43
<b>Figura 15.</b>	Espectrofotómetro de UV-Vis.....	43
<b>Figura 16.</b>	Procedimiento experimental para la extracción de las sustancias húmicas.....	45
<b>Figura 17.</b>	Sistema de extracción de sustancias húmicas con	

	atmósfera inerte.....	46
<b>Figura 18.</b>	Procedimiento experimental para la separación y purificación de los ácidos húmicos y fúlvicos.....	43 47
<b>Figura 19.</b>	Purificación de ácidos fúlvicos con la resina Amberlita XAD-8.....	49
<b>Figura 20.</b>	Purificación de los ácidos fúlvicos con la resina Amberlita IR-120.....	49
<b>Figura 21.</b>	Equipo de liofilización LABCONCO.....	50
<b>Figura 22.</b>	Espectrómetro de FT-IR con accesorio ATR.....	51
<b>Figura 23.</b>	Equipo de HPLC Agilent.....	54
<b>Figura 24.</b>	Espectro FT-IR para los AH de la muestra FU-CAR.....	60
<b>Figura 25.</b>	Espectro FT-IR para los AH de la muestra FUP-1.....	61
<b>Figura 26.</b>	Espectro FT-IR para los AF de la muestra FU-CAR.....	61
<b>Figura 27.</b>	Espectro FT-IR para los AF de la muestra FUP-1.....	62
<b>Figura 28.</b>	Cromatograma del patrón de ácido gálico.....	68
<b>Figura 29.</b>	Cromatograma del patrón de vainillina.....	69
<b>Figura 30.</b>	Cromatograma del patrón de ácido salicílico.....	69
<b>Figura 31.</b>	Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FU-CAR 1.....	70
<b>Figura 32.</b>	Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FU-CAR 1.....	70
<b>Figura 33.</b>	Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FUP-1 1.....	71
<b>Figura 34.</b>	Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FUP-1 1.....	71

## ÍNDICE DE TABLAS

		<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b>	Clasificación del carbón según su rango.....	16
<b>Tabla 2.</b>	Clasificación de la materia orgánica en carbones y rocas sedimentarias.....	19
<b>Tabla 3.</b>	Propiedades de algunos compuestos fenólicos.....	21
<b>Tabla 4.</b>	Datos de niveles de oxidación relativos del carbón.....	44
<b>Tabla 5.</b>	Resultados obtenidos para el análisis inmediato de las muestras de lignito.....	51
<b>Tabla 6.</b>	Contenido de sustancias húmicas en las muestras de lignito.....	57
<b>Tabla 7.</b>	Contenido de carbono total en las muestras de ácidos húmicos y fúlvicos.....	59
<b>Tabla 8.</b>	Señales presentes en los espectros IR.....	63
<b>Tabla 9.</b>	Índices $E_4/E_6$ .....	65
<b>Tabla 10.</b>	Resultados de acidez total y grupos carboxílicos.....	66
<b>Tabla 11.</b>	Análisis cualitativo de patrones de fenoles por HPLC.....	68
<b>Tabla 12.</b>	Resultados de la cuantificación de los compuestos fenólicos en las muestras de lignito.....	73

## 1. INTRODUCCIÓN

Las sustancias húmicas son los productos de la biosíntesis de mayor distribución en la faz de la tierra. Además de estar presentes en los suelos, se encuentran, en concentraciones variables, en ríos, lagos, océanos, compost, sedimentos, turbas y carbones <sup>[1]</sup>.

Las sustancias húmicas representan los constituyentes más activos de la materia orgánica del suelo, en términos de sus funciones ambientales y agroecológicas y son consideradas tradicionalmente como una fuente de nutrientes de liberación lenta para las plantas y una reserva de coloides orgánicos con un papel principal en la regulación de procesos de nutrición de vegetales, movilidad de iones tóxicos y en la agregación, estructura y capacidad de retención hídrica del suelo. Desde el punto de vista ambiental, hay un doble interés en el estudio de las sustancias húmicas: son una fuente de conocimiento ambiental (evaluación del impacto ambiental del suelo), pero también actúan como constituyentes activos del suelo <sup>[2]</sup>.

Los fertilizantes son sustancias que se añaden al suelo para aportarle los nutrientes necesarios, con el fin de que las plantas crezcan con más vigor. Sin embargo, se ha demostrado que, a largo plazo, contribuyen al agotamiento de la capacidad regeneradora natural del suelo <sup>[4]</sup>. Además se ha comprobado que los fertilizantes fosfatados son altamente contaminantes. Una de las maneras más efectivas para sustituir los fertilizantes químicos es el empleo de ácidos húmicos, los cuales tienen una gran capacidad para retener y transportar nutrientes, metales, pesticidas, etc.; además de ser la fuente más importante de carbono orgánico terrestre y acuático. Por otro lado, los ácidos húmicos activan los procesos bioquímicos en plantas, tales como la respiración (fotosíntesis), con lo que se incrementa el contenido de clorofila, la adsorción de nutrientes, el crecimiento de organismos del suelo, el desarrollo de las raíces, la calidad y el rendimiento de muchas plantas <sup>[3][4]</sup>.

Desde el descubrimiento de la alta concentración de ácidos húmicos en Leonarditas (forma oxidada del lignito), su producción comercial para la agricultura aumentó de manera considerable <sup>[1]</sup>. Las propiedades especiales de los lignitos, tales como un mayor contenido de carbono total, mineralización relativamente lenta, la falta de factores patógenos y sustancias tóxicas y su estructura porosa, sugieren que la utilización de este material para enriquecer el suelo en humus, es particularmente atractivo. Sin embargo, cuando el carbón se expone al agua, en su mayoría, algunas sustancias, presentes de manera natural en su estructura orgánica e inorgánica, pueden ser lixiviadas, contaminando así los alrededores <sup>[1] [5] [6]</sup>.

Debido a que las sustancias húmicas son asociadas, entre otros materiales, con depósitos de mantos carboníferos, las grandes empresas mineras de carbón están comenzando a darse cuenta de que el mercado de estos materiales puede ser atractivo <sup>[7]</sup>.

Venezuela cuenta con yacimientos carboníferos que agrupan a los carbones dentro de la categoría de sub-bituminosos a lignitos, con un alto contenido de volátiles <sup>[8]</sup>. Estos yacimientos representan grandes ganancias económicas para las industrias energéticas y agrícolas; sin embargo, es poco estudiado el contenido y la posterior lixiviación de compuestos tóxicos, como los fenoles, en las sustancias húmicas provenientes de estos carbones y su impacto en el medio ambiente donde se encuentran.

Los ácidos fenólicos, asociados a las sustancias húmicas, son metabolitos secundarios procedentes de la ruta del ácido siquímico. En plantas superiores, estos ácidos han sido implicados como agentes aleopáticos <sup>[9] [10]</sup>, en procesos de resistencia a enfermedades y en situaciones de estrés donde la biosíntesis fenólica es activada en algunos sistemas por factores tales como bajas temperaturas, transportes de agua, entre otros <sup>[11] [12]</sup>.

En los suelos, grandes cantidades de compuestos fenólicos pueden ser liberados por la descomposición de los residuos vegetales. Los compuestos fenólicos solubles liberados pueden ser degradados y mineralizados por los microorganismos heterótrofos, transformándolos en sustancias húmicas insolubles y recalcitrantes (huminas) por reacción de polimerización y condensación; también pueden encontrarse en forma de quelatos, con iones de aluminio o de hierro o pueden permanecer disueltos y posteriormente ser lixiviados por filtraciones de agua <sup>[13]</sup>.

En la actualidad, tanto en Venezuela como en el resto del mundo, ha surgido la necesidad de reducir el uso de fertilizantes químicos, que durante años han contaminado el medio ambiente. Los lignitos encontrados en la Formación Urumaco, ubicada en el estado Falcón, Venezuela, poseen un gran potencial para ser utilizados como fertilizantes naturales, debido a su alto contenido de sustancias húmicas. Sin embargo, existen pocos trabajos en los cuales se realicen la caracterización geoquímica y se estudie el contenido de compuestos fenólicos en los lignitos de esta región. Es por ello, que este trabajo plantea como objetivo fundamental la caracterización geoquímica de las sustancias húmicas extraídas de lignitos de la Formación Urumaco, estado Falcón, Venezuela.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Caracterizar geoquímicamente las sustancias húmicas extraídas de muestras de lignitos pertenecientes a la Formación Urumaco, estado Falcón, Venezuela.

### 2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el rango de madurez de muestras de carbón a través de la determinación del contenido de humedad (%H), cenizas (%Cenizas), azufre (%S), materia volátil (%M.V), carbono total (%C.T.) y carbono fijo (%C.fijo).
- Evaluar el rango de oxidación de muestras de carbón por extracción alcalina.
- Extraer y cuantificar las sustancias húmicas obtenidas de muestras de lignitos estudiados.
- Caracterizar a los ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de muestras de lignitos, mediante la determinación del %CT, el análisis de FTIR, UV-Vis, acidez total y grupos carboxílicos.
- Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos encontrados en los ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de muestras de lignito, a través de la técnica de HPLC.

### 3. MARCO TEÓRICO

En los siguientes párrafos se resume una serie de aspectos teóricos publicados por diferentes autores que se consideran importantes para la comprensión del trabajo a desarrollar, y que además pueden ser de ayuda a la hora de interpretar los resultados obtenidos.

#### 3.1. Fertilizantes

Se denomina fertilizante a cualquier material natural o industrializado, que contenga al menos 5% de uno o más de los tres nutrientes primarios ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ) y que se añade al suelo para aportarle los nutrientes que necesita a fin de que las plantas crezcan con más vigor y así aumentar su rendimiento <sup>[4][14]</sup>.

Los fertilizantes pueden clasificarse según:

- *Su origen:* orgánico e inorgánico.
- *Su composición:* puros y compuestos.
- *Sus características:* líquidos y sólidos.
- *El uso* al cual están destinados.

Los fertilizantes inorgánicos pueden ser de origen natural, extraídos del suelo (como el salitre, el cual consiste en una mezcla de  $\text{NaNO}_3$  y  $\text{KNO}_3$ ) o bien sintéticos elaborados por el hombre. Generalmente los de este tipo son de acción rápida y estimulan el crecimiento y vigor de las plantas cuando se aplican sobre la superficie.

Los fertilizantes orgánicos pueden ser de origen animal (guano) o vegetal (compost, abonos verdes). La mayoría son de acción lenta, ya que proporcionan nitrógeno orgánico, el cual debe ser transformado en inorgánico por las bacterias del suelo antes de ser absorbido por las raíces <sup>[15]</sup>.

De acuerdo con la Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes (IFA por sus siglas en inglés), el consumo global de fertilizantes registró una cifra record de 176.1 millones de toneladas para el año 2012, lo que representa un crecimiento del 2,2% con respecto al 2011. El 61% de este consumo, correspondió a los fertilizantes nitrogenados, el 23% a los fosfatados y el 16% a los potásicos <sup>[16]</sup>. Por otro lado, la producción mundial de los fertilizantes, para el año 2012, ascendió a 241 millones de toneladas, creciendo a una tasa anual de 1,2% <sup>[16]</sup>.

A nivel mundial, en el año 2011, la región Asia-Pacífico acaparó la mayor demanda del mercado mundial de fertilizantes, con un volumen del 53% del total. América del Norte representó un 20% del volumen total <sup>[17]</sup>. En Venezuela, en el año 2012, se entregaron alrededor de 379 mil toneladas de fertilizantes, lo que representa el 0,2% del total para este año <sup>[18]</sup>.

### **3.2. Materia orgánica (MO) y sustancias húmicas (SH)**

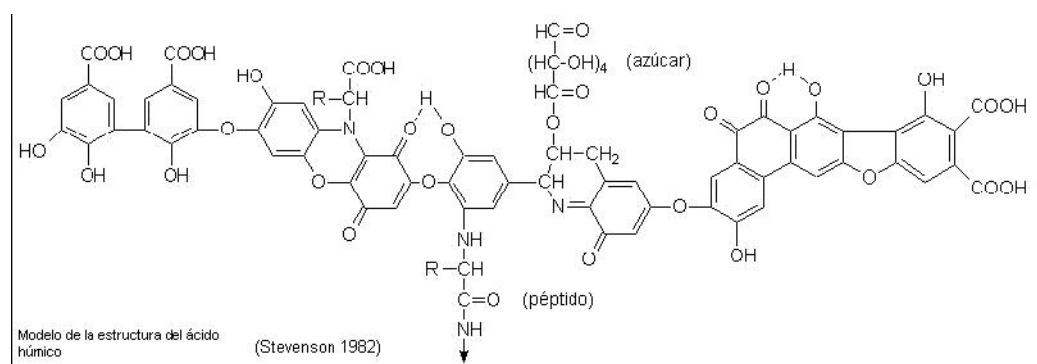
Se define como materia orgánica del suelo al total de las sustancias orgánicas (basadas en su contenido de carbono) presentes en el suelo. Está formada por una serie de componentes que van desde tejidos vegetales y animales poco alterados y productos efímeros procedentes de su descomposición, hasta un material color pardo o negro, bastante estable, que no presenta ninguna semejanza con las estructuras anatómicas de las que procede; a esta sustancia se le denomina *humus* <sup>[7]</sup>. El proceso en el cual los fragmentos reconocibles de plantas y animales sufren un cambio y forman el humus, se denomina *humificación* <sup>[19]</sup>.

Las sustancias húmicas (SH) son mezclas complejas y heterogéneas de materiales polidispersos formados por reacciones bioquímicas y químicas durante la humificación, por la participación de compuestos provenientes de la lignina y sus productos de transformación, así como los polisacáridos, la melanina, cutina, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, partículas finas de carbón, etc.,. Las S.H. son los principales

componentes de la materia orgánica natural en el suelo y agua, así como en depósitos geológicos orgánicos, tales como los sedimentos lacustres, turbas, carbones pardos y lutitas [20]. Son componentes muy importantes del suelo, que afectan las propiedades físicas y químicas y mejoran la fertilidad del suelo. En los sistemas terrestres y acuáticos las SH afectan la química, el ciclismo y la biodisponibilidad de los elementos químicos, así como el transporte y la degradación de productos químicos xenobióticos y orgánicos naturales [20].

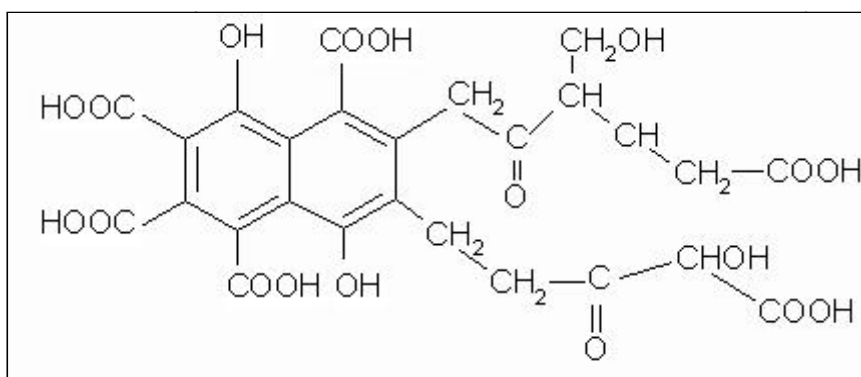
En suelos y sedimentos, las SH se puede dividir en tres fracciones principales:

- *Ácidos húmicos (AH)*: Son polímeros complejos de alto peso molecular con núcleos vecinos (grupos radicales) que permiten capturar iones del medio circundante o una mayor polimerización (Figura 1). Desde el punto de vista operacional pueden ser definidos como compuestos solubles en soluciones de bases fuertes (NaOH o KOH) y precipitan en presencia de un ácido fuerte (HCl). Hay dos tipos de AH: pardos, que provienen de la oxidación de la lignina. Estos compuestos son poco estables y presentan un bajo contenido de nitrógeno en forma amínica ( $-NH_2$ ); y los grises, que se forman por la acción de microorganismos del suelo, tienen mayor contenido de nitrógeno y forman complejos órgano-minerales (arcillas-humus) muy estables.



**Figura 1.** Modelo de la estructura de los ácidos húmicos propuesta por Stevenson (1982) [21]

- *Ácidos fúlvicos (AF)*: Están formados, principalmente, por ácidos orgánicos y compuestos fenólicos (Figura 2). Se forman bajo condiciones ácidas y mínima participación de síntesis, producto de la acción de microorganismos. Operacionalmente, los AF son definidos como la fracción presente en las SH que es soluble en soluciones de bases fuertes y ácidos fuertes.



**Figura 2.** Modelo de la estructura de los ácidos fúlvicos propuesta por Buffie (1987) <sup>[22]</sup>

- *Huminas*: Está formada por polímeros de alto peso molecular. Son muy resistentes al ataque microbiano. Se producen por condensación de sustancias orgánicas, pero también se pueden producir por transformación de sustancias húmicas del suelo como los ácidos orgánicos, los azúcares aminados, etc. Estos compuestos no pueden ser extraídos ni por la acción de bases ni por la de ácidos fuertes <sup>[20] [23]</sup>.

La mayoría de los datos sobre AH, AF y huminas se refieren a propiedades promedios y la estructura de un gran conjunto de componentes de estructuras y peso molecular diversos. Las propiedades exactas y la estructura de una muestra de SH dada, depende de la fuente (agua o suelo) y de las condiciones específicas de extracción. Sin embargo, las propiedades promedio de los AH, AF y las huminas de diferentes fuentes son notablemente similares <sup>[20]</sup>.

### 3.3. Aplicación de las Sustancias Húmicas como medios fertilizantes

Las sustancias húmicas son utilizados como fertilizantes, ya que poseen ciertas características que los hacen el material ideal para esta aplicación. Entre las aplicaciones de las sustancias húmicas como medios fertilizantes se encuentran que:

- Airean los suelos arcillosos y mejoran su estructura. De esta manera el agua, los elementos nutritivos y las raíces pueden penetrar más fácilmente en el suelo <sup>[1]</sup>.
- Envuelven las partículas de arena, incrementan la capacidad de intercambio catiónico y la capacidad de retención de humedad y de los elementos nutritivos. Por lo tanto, evitan la lixiviación hacia las aguas subterráneas de los elementos nutritivos, sobre todo del nitrato. Estos elementos nutritivos son retenidos en el suelo con el agua así que quedan disponibles para las plantas <sup>[1]</sup>.
- Debido a su alta capacidad tampón, neutralizan los suelos ácidos. El estrés para las raíces de las plantas causado por el ácido se reduce. Fijan e inmovilizan los elementos nocivos para las plantas, particularmente el aluminio y los metales pesados. De esta manera la toxicidad se reduce y se libera el fosfato unido por el aluminio <sup>[1]</sup>.
- Aumentan la eficacia de pesticidas, herbicidas y fungicidas e inmovilizan sus residuos nocivos <sup>[1]</sup>.

### 3.4. Extracción de las Sustancias Húmicas

El mayor contenido de la MO, presente en los suelos y sedimentos, se encuentra en formas insolubles como complejos macro moleculares aislados o unidos mediante cationes divalentes o trivalentes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$ ), y se combinan con otros componentes inorgánicos como arcillas, formando complejos arcillo-húmicos o atrapada entre láminas de arcillas expandidas. Para que estas macromoléculas se solubilicen en

agua, es necesario reemplazar los cationes polivalentes por cationes monovalentes ( $K^+$ ,  $Na^+$ ) y lograr así la solvatación de los polianiones <sup>[24]</sup>.

Stevenson et al. (1994) <sup>[25]</sup>, señala que los métodos de extracción ideales son aquellos que cumplan con las siguientes condiciones:

- Logren extraer la mayor cantidad de sustancias húmicas, sin alterarlas.
- Las sustancias húmicas extraídas se encuentren libres de contaminantes inorgánicos tales como arcillas y cationes polivalentes.
- Obtenga una extracción completa.

Las metodologías de extracción de sustancias húmicas se clasifica en tres tipos, según la agresividad del reactivo que se utiliza para disolver las sustancias húmicas <sup>[24]</sup>:

- Extractantes fuertes.
- Extractantes medios.
- Extractantes suaves.

#### **3.4.1. Extractantes fuertes**

Como extractantes fuertes se conocen el hidróxido de sodio (NaOH) y el hidróxido de potasio (KOH). La utilización de este tipo de extractantes es el procedimiento más utilizado para la extracción de sustancias húmicas del tipo comercial <sup>[24]</sup>.

La mayor ventaja de este método es el alto rendimiento que se obtiene (80%) <sup>[24]</sup>. Sin embargo, aunque es la más efectiva de las extracciones, presenta algunas desventajas:

- Disuelve fracciones minerales (arcillas) que contaminan la materia orgánica.
- Disuelve componentes estructurales y protoplasmáticos de la biomasa y tejidos frescos que se mezclan con la materia húmica.
- Se producen condensaciones entre aminoácidos y grupos carbonilos de aldehídos aromáticos o quinonas para formar compuestos tipo húmicos.
- Se producen autooxidaciones de algunos constituyentes orgánicos al contacto con el aire.

#### **3.4.2. Extractantes medios**

Entre este grupo de extractantes se encuentra el pirofosfato de sodio ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ), el oxalato amónico, fluoruro de sodio (NaF), entre otros. El más utilizado es el pirofosfato de sodio, que, aunque muestra una efectividad de menos del 30%, produce el mínimo de alteraciones de la materia orgánica. En algunos casos, el pirofosfato es utilizado junto con el hidróxido de sodio <sup>[24]</sup>.

#### **3.4.3. Extractantes suaves**

Como alternativa a la agresividad de los extractantes alcalinos, se han venido desarrollando algunos procedimientos más suaves. Estos procedimientos incluyen el uso de agentes acomplejantes como EDTA, acetilcetona, cupferrón y algunos disolventes orgánicos como el tetrahidrofurano. Una manera de aumentar la efectividad es la mezcla de estos reactivos con otros productos, como la urea a altas concentraciones <sup>[24]</sup>. Obviamente, aunque las alteraciones que se producen en la materia orgánica extraída son menores, la efectividad que muestran estos productos varía entre un 20% y un 30% <sup>[24]</sup>.



### 3.5. Carbón

El carbón mineral es una roca sedimentaria formada por más de 50% en peso y más de 70% en volumen de material carbonáceo, que proviene de la fosilización de restos orgánicos vegetales, localizada generalmente bajo una capa de arena, lutita o arcilla, y es utilizada como combustible fósil, gracias a su alto contenido en carbono <sup>[26]</sup>.

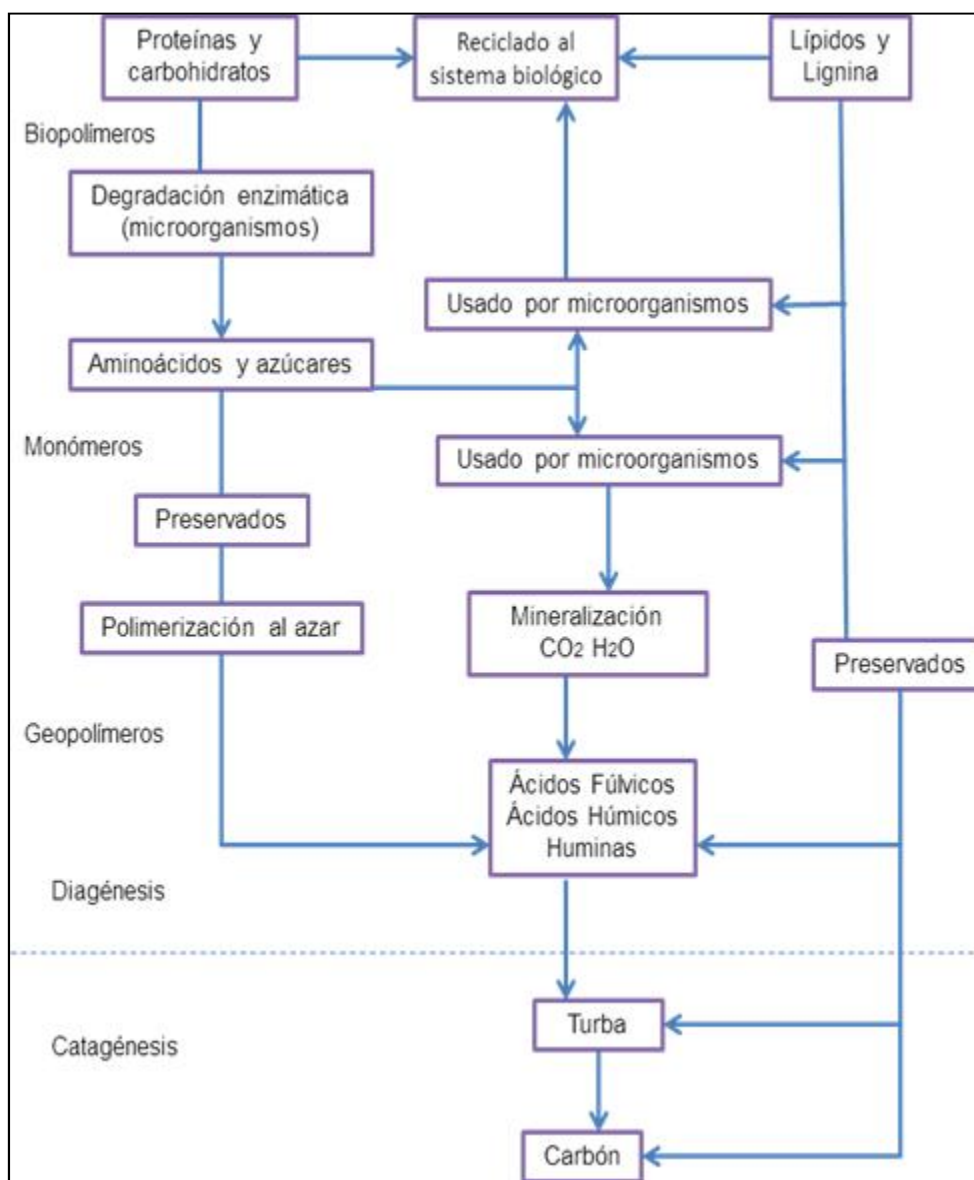
El carbón surge de la evolución y descomposición de diversos materiales orgánicos de naturaleza vegetal, como hojas, maderas, raíces y esporas, provenientes de los abundantes bosques de la era geológica en que se formó. Estos restos orgánicos se fueron depositados en las aguas colindantes a las orillas costeras o muchas veces pantanosas, quedando bajo cuantiosas capas de agua y sedimentos, protegiéndolos del aire, comenzando así una lenta descomposición de estos restos vegetales por la acción de bacterias anaerobias, las cuales transforman los componentes de los restos vegetales en ácidos húmicos. Posteriormente se produce una compactación, producto de la acción de la presión litostática e hidrostática ejercida por las capas suprayacentes y la columna de agua, que junto con la temperatura, culmina en el enriquecimiento en carbono y la pérdida de N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y humedad <sup>[26] [27]</sup>.

La evolución de la materia orgánica para generar carbón se compone de dos etapas, diagénesis temprana o sindiagénesis y catagénesis (Figura 3), las cuales implican una serie de cambios físicos, químicos y bioquímicos, dando como resultado una serie de carbones de distintos niveles de madurez <sup>[28]</sup>.

- *La diagénesis*, comienza a partir de la depositación de restos vegetales en una cuenca, en donde la actividad microbial se convierte en el principal agente de transformación de la materia orgánica. Los microorganismos anaeróbicos degradan, mediante procesos enzimáticos las biomoléculas, generando nuevos constituyentes denominados geopolímeros <sup>[29]</sup>.

- *La etapa geoquímica o catagénesis de la materia orgánica*, constituye una serie de cambios, producto del incremento de la temperatura, presión y tiempo. El intervalo de temperatura de esta serie de cambios ocurre entre 50°C y 200°C. Este proceso es llevado a cabo en períodos de tiempo más largos que la etapa anterior y es aquí donde comienza la etapa de carbonización o madurez térmica del carbón. El resultado de este proceso incluye la pérdida de agua, aumento del porcentaje de reflectancia vitrinita, pérdida de grupos funcionales oxigenados, sulfurados y nitrogenados, polimerización, craqueo y aromatización progresiva <sup>[27]</sup> <sup>[30]</sup>. La catagénesis tardía es la última etapa de la maduración y conversión de materia orgánica. Se produce a temperaturas de 150° a 200°C. Al final de esta etapa, el metano, o gas seco, evoluciona junto con gases tales como CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S.

El metamorfismo, ocurre a temperaturas mayores a 200°C obteniéndose como resultado la grafitización del material pre-existente <sup>[30]</sup>.



**Figura 3.** Evolución de la materia orgánica <sup>[30]</sup>

Según el grado de carbonificación alcanzado por los restos vegetales que le dieron origen, el carbón puede ser dividido en diferentes rangos. Los carbones de rango inferior son de baja capacidad calórica, debido a sus altos niveles de humedad y bajo contenido de carbono. Su aspecto es terroso, blando y desmesurable. Los carbones de

alto rango son de gran capacidad energética debido a su mayor porcentaje en carbono y menor humedad. Suelen ser más duros, resistentes y tienen un color más negro <sup>[26]</sup>.

Actualmente, se sabe que la composición del carbón no es puramente carbono, existen otros compuestos y elementos en este mineral que de alguna u otra forma alteran su comportamiento como combustibles. Estos son <sup>[26]</sup>:

- *Oxígeno*: Su aumento reduce el poder calorífico ya que este elemento favorece la conservación de la humedad.
- *Nitrógeno*: En los carbones, varía entre el 1% y el 2,5%.
- *Azufre*: Se encuentra incorporado en compuestos inorgánicos (sulfuros y sulfatos) y orgánicos (tioéteres, tioles, benzotiofenos entre otros).
- *Gases*: Constituyen las materias volátiles del carbón ( $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO$ ,  $N_2$ ,  $CO_2$ ).
- *Ceniza*: Es todo aquel material incombustible que disminuye su poder calorífico.

### **3.5.1. Clasificación del carbón**

Existen múltiples formas de clasificar el carbón y a continuación se enuncian las principales clasificaciones.

Una de las clasificaciones más aceptadas para el carbón corresponde a la American Society for Testing and Materials (ASTMD-388-777), que lo divide en cuatro clases según las propiedades referidas a la composición de los vegetales y las condiciones de temperatura y presión a las que fueron sometidos durante su formación, como se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación del carbón según su rango <sup>[31]</sup>

Tipo	Grupo	Carbono fijo (%)	Materia volátil (%)	Poder calorífico	
				BTU/Lb	KJ/Kg
Antracita	Meta-antracita	98	2		
	Antracita	92-98	2-8		
	Semiantracita	86-92	8-14		
Bituminoso	Bajo en volátiles	78-86	14-22		
	Medio en volátiles	69-78	22-31		
	Alto en volátiles A	69	31	14.000	32.564
	Alto en volátiles B			13.000-14.000	30.238-32.564
	Alto en volátiles C			10.500-13.000	24.423-30.238
Sub-Bituminoso	Sub-Bituminoso A			10.500-11.500	24.423-26749
	Sub-bituminoso B			9.500-10.500	22.097-24.423
	Sub-bituminoso C			8.300-9.500	19.306-22.097
Lignítico	Lignítico A			6.300-8.300	14.654-19.306
	Lignítico B			6.300	14.654

Según su contenido de carbono fijo, el carbón se clasifica en:

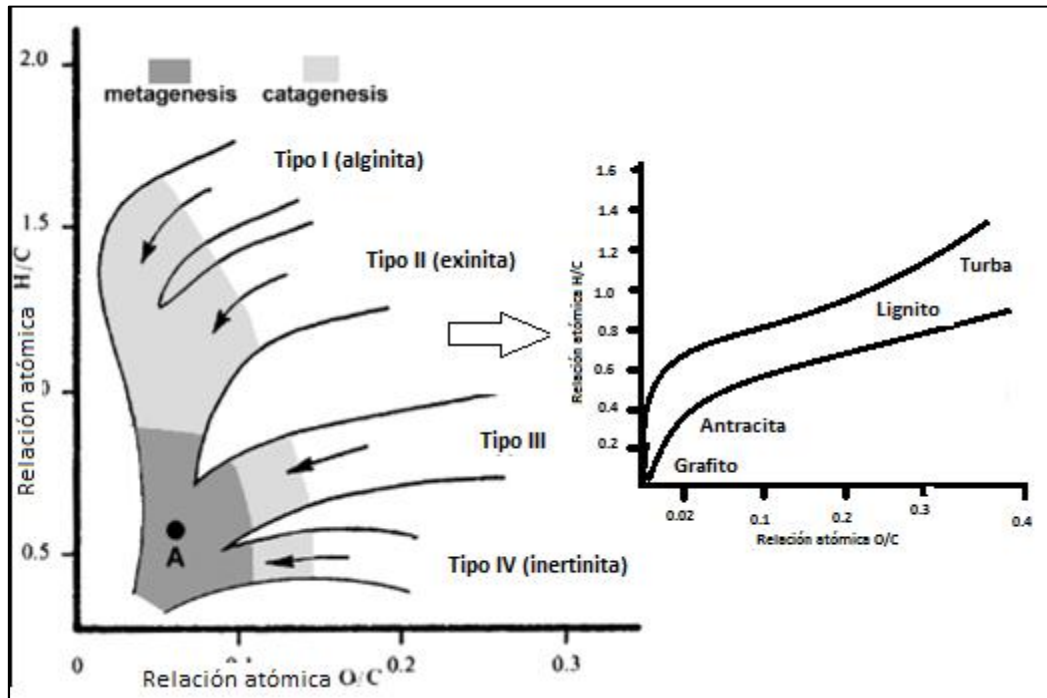
- *Turbas*: es un material orgánico compacto, de color pardo claro hasta oscuro y rico en carbono. Es de rango inferior <sup>[26]</sup>.
- *Lignito*: Es una fase de transición entre la turba y el sub-bituminoso. Su aspecto es similar a una madera o arcilla y es de rango inferior. Cuando el lignito tiene un alto grado de oxidación se le denomina Leonardita, la cual tiene un contenido más alto de ácidos húmicos en comparación con los otros carbones no oxidados <sup>[26]</sup>.
- *Sub-bituminoso*: Ya han perdido la estructura leñosa de los lignitos. Se clasifica como un carbón de rango inferior. Es empleado en la generación de energía eléctrica y en procesos industriales <sup>[26]</sup>.

- *Bituminoso (hulla)*: Por su forma de uso se conocen como carbones coquizables, usados en procesos de obtención del acero, y carbones térmicos, usados en la producción de vapor para generación de energía <sup>[26]</sup>.
- *Antracita*: Usado como combustible en generación de calor o vapor en la industria térmica y siderúrgica, también se usa en la fabricación de goma sintética, colorantes y purificación de agua para consumo humano (filtros) <sup>[26]</sup>.

El carbón es también clasificado, de acuerdo a la materia orgánica que le dio origen, como:

- *Carbones húmicos*, formados en ambientes sedimentarios continentales, los cuales, en la mayoría de los casos, preservan la estructura celular propia de vegetación superior <sup>[29]</sup>.
- *Carbones sapropélicos*, formados en ambientes continentales con influencia marina (transicionales), aporte de algas, plantas superiores y hongos <sup>[29]</sup>.

Basándose en el análisis elemental de los carbones, específicamente en las relaciones atómicas H/C y O/C del diagrama de Van Krevelen, se establece un diagrama de variación de rango durante las etapas de carbonificación. En este diagrama, los carbones son clasificados por sus contenidos de H, C y O (Figura 4) <sup>[32]</sup>.



**Figura 4.** Diagrama de Van Krevelen para la clasificación del carbón <sup>[32]</sup>

Desde el punto de vista petrográfico se puede establecer una clasificación de los carbones según sus constituyentes (macerales). Los macerales son constituyentes microscópicos reconocibles del carbón y que pueden diferenciarse por su morfología. Los macerales dominantes en el carbón, en orden decreciente de su contenido de hidrógeno, son: liptinita (exinita), vitrinita e inertita (tabla 2) <sup>[30]</sup>.

**Tabla 2.** Clasificación de la materia orgánica en carbones y rocas sedimentarias <sup>[30]</sup> <sup>[33]</sup>

	<b>Sapropélicos</b>	<b>Húmicos</b>	
<b>Grupo Maceral de carbones</b>	Liptinita (exinita)	Vitrinita	Inertita
<b>Macerales</b>	Alginita, Cerinita, Esporinita, Cutinita, Resinita, Liptodetrinita	Telinita, Telocolinita, Desmocolinita, Vitrodetrinita	Fusinita, Inertodetrinita, Esclerotinita, Macrinita
<b>Características</b>	Estructura celular, Fragmentos de estructura celular	Esporas, bandeado con salientes laterales, estructura celular de plantas, fragmentos irregulares, masas lenticulares, laminares, discoidales	Estructura celular vacía o con minerales, estructura celular, pequeñas partículas de fusinita y semifusinita, cavidades irregulares con paredes reflectantes
<b>Origen</b>	Troncos, ramas, raíces, hojas, partículas de materia vegetal humificada.	Mega y micro esporas, cutículas, corcho y tejidos afines, fragmentos y residuos degradados, algas	Madera y hojas quemadas, madera y hojas alteradas bioquímicamente, combinación fragmentaria de los anteriores, restos de hongos

### 3.6. Compuestos fenólicos en las SH

Las sustancias húmicas tienen un origen complejo y una estructura macromolecular heterogénea, dependiendo del material que le dio origen. En la estructura de estas sustancias se incluyen fracciones aromáticas y alifáticas (o-alquilo y alquilo) y una serie de grupos funcionales con oxígeno (principalmente carboxilo y fenol). En la estructura macromolecular de las sustancias húmicas es común encontrar productos de oxidación de los materiales que le dieron origen, como fenoles cinamílicos, compuestos con grupos syringyl y vanillyl <sup>[34]</sup> <sup>[2]</sup>.

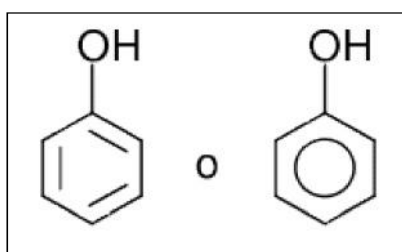


Los ácidos húmicos y fúlvicos, extraídos de lignitos, son utilizados en la agricultura como fertilizantes y según estudios realizados por Sao, Bhatt y Swarnkar (2010) <sup>[33]</sup>, el lignito contiene un aproximado de 343 Cmol (p+)/Kg de grupos fenólicos, y cuando el carbón se expone al agua, en su mayoría algunos de estos materiales orgánicos pueden ser lixiviados, lo que implica un riesgo de contaminación en las aguas que se encuentran adyacentes a los cultivos.

Los compuestos fenólicos que se encuentran en las sustancias húmicas son del tipo vanílicos (vainillina y ácido vanílico), compuestos siríngicos (siringaldehído y ácido siríngico) y los compuestos cinamílicos (ácido ferúlico, ácido caféico y ácido cinámico). Estos compuestos se encuentran, en una mayor proporción, en los ácidos fúlvicos, en comparación con los ácidos húmicos.

A continuación se presentan una serie de definiciones, características y técnicas de análisis para los compuestos fenólicos, lo que proporcionará una mayor comprensión con respecto al comportamiento de estos y cómo son determinados experimentalmente en las muestras de lignito.

Los fenoles son compuestos con fórmula general ArOH, donde Ar es el grupo fenilo, fenilo sustituido o algún otro grupo arilo. Los fenoles difieren de los alcoholes en que tienen el grupo –OH directamente unido al anillo aromático (figura 5).



**Figura 5.** Representación de la fórmula estructural del fenol

Los fenoles más sencillos son líquidos o sólidos de bajo punto de fusión. Poseen puntos de ebullición muy elevados, ya que forman puentes de hidrógeno, como se observa en la tabla 2. Son incoloros, sin embargo, se oxidan fácilmente, por lo que a menudo son coloreados <sup>[34]</sup>.

**Tabla 3.** Propiedades de algunos compuestos fenólicos <sup>[32]</sup>

Nombre	P.F (°C)	P.E (°C)	Solubilidad g/100g H <sub>2</sub> O a 25°C	Ka
<b>Fenol</b>	41	182	9,3	$1,1 \times 10^{-10}$
<b>o-cresol</b>	31	191	2,5	0,63
<b>m-cresol</b>	11	201	2,6	0,98
<b>p-cresol</b>	35	202	2,3	0,67
<b>Catecol</b>	104	246	45	1
<b>Resorcinol</b>	110	281	123	3
<b>hidroquinona</b>	173	286	8	2

Los fenoles se comportan como ácidos Brøwsted-Lowry generalmente débiles. Los hidróxidos acuosos convierten a los fenoles en sus sales; los ácidos minerales acuosos los reconvierten nuevamente en fenoles libres. La mayoría de los fenoles tienen valores de Ka del orden de  $10^{-10}$ , por lo que son considerablemente menos ácidos que los ácidos carboxílicos ( $Ka \approx 10^{-5}$ ) <sup>[32]</sup>.

### 3.7. Técnicas de análisis para caracterizar los AH y AF

Hasta el momento no existe una técnica analítica experimental individual que permita la elucidación y caracterización de la estructura de los ácidos húmicos y fúlvicos, pero el uso de varios métodos complementarios proporciona una visión más fiable de sus características. A continuación se presentan los fundamentos teóricos de algunas de las técnicas analíticas aplicadas en la caracterización de las sustancias húmicas.

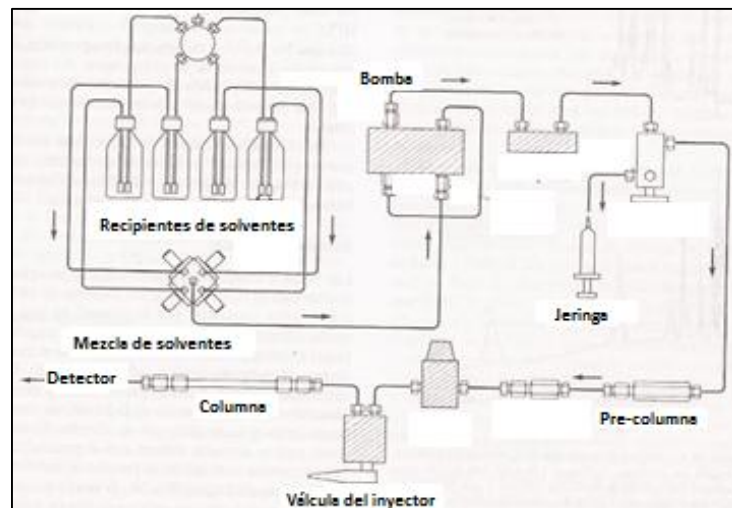
### 3.7.1. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

La cromatografía es un procedimiento físico-químico de separación. Agrupa un conjunto importante de métodos que permite la separación de compuestos en mezclas complejas, que por otros medios serían imposibles de separar <sup>[37]</sup>.

En la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), la muestra se desplaza con una fase móvil líquida. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria, con la cual es inmisible, y que se fija a una superficie sólida.

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), es una de las técnicas cromatográficas más ampliamente utilizada, debido a que posee una alta sensibilidad, es idónea para el análisis de especies no volátiles o termolábiles y sobre todo, su gran aplicabilidad en áreas industriales y científicas.

Los equipos de HPLC se componen de varios módulos con funciones definidas. Generalmente, los equipos se componen de cuatro módulos principales: la bomba, el inyector, la columna y el detector (Figura 6).



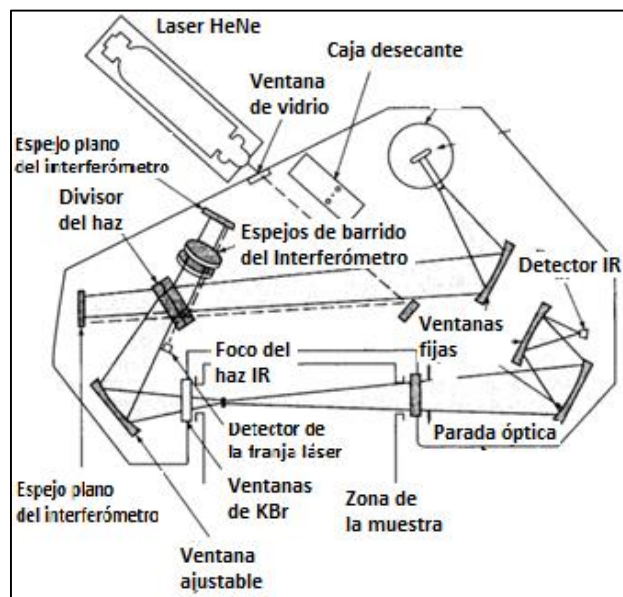
**Figura 6.** Instrumentación general de un equipo de HPLC <sup>[38]</sup>

En lo concerniente al análisis estructural de las sustancias húmicas, la técnica de HPLC permite la identificación de algunos fragmentos típicos liberados por estas sustancias, como los OH-ácidos grasos, ácidos fenólicos, ácidos bencenocarboxílicos, etc. En algunos casos, esta técnica ofrece un diagnóstico interesante de compuestos biomarcadores con un claro valor quimiotaxonómico <sup>[2]</sup>.

### **3.7.2. Espectroscopia de infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)**

La espectrometría de infrarrojo (IR) agrupa una variedad de métodos no destructivos de identificación y determinación basados en la absorción o la reflexión, por parte de la muestra, de radiaciones electromagnéticas comprendidas entre 1- 50  $\mu\text{m}$ . Esta banda espectral se divide en IR cercano (1- 2,5  $\mu\text{m}$ ) e IR medio (2,5- 50  $\mu\text{m}$ ) <sup>[12]</sup>. Los espectros de absorción, emisión y reflexión en el infrarrojo, de especies moleculares, son explicados asumiendo que todos son el resultado de los distintos cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales y rotacionales a otros <sup>[37]</sup>.

Los espectrómetros de transformada de Fourier corresponden a un montaje de haz simple que contiene como pieza esencial un interferómetro (generalmente del tipo Michelson) colocado entre la fuente y la muestra (Figura 7). Realizan un análisis simultáneo de toda la banda espectral a partir de medidas interferométricas <sup>[37]</sup>.



**Figura 7.** Espectrómetro FTIR de un solo haz <sup>[37]</sup>

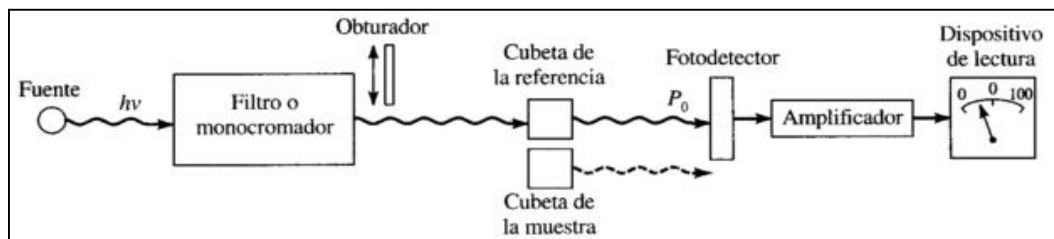
La espectroscopia infrarroja es usada en sustancias húmicas para identificar grupos funcionales y la naturaleza de los enlaces entre las unidades estructurales.

Unas series de unidades estructurales son reconocibles por espectroscopia infrarroja: grupos O-H, alifáticos, carbonílicos, olefínicos y aromáticos, amidas, álcalis, grupos ArO-CH<sub>3</sub> y estructuras lignina guaiacil, éteres, alcoholes, carbohidratos, etc <sup>[2]</sup>.

### 3.7.3. Espectrometría de absorción Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

La región del espectro de absorción, comprendida entre 180 y 1100 nm es denominada como *UV-Vis*, ya que engloba las radiaciones perceptibles por el ojo humano. El origen de la absorción luminosa se debe a la interacción de los fotones incidentes con las especies de la muestra, así, cuando una molécula aislada absorbe un fotón de la región UV-Vis, la energía de uno o varios electrones de valencia aumenta y las modificaciones de la polaridad ocasionadas en el transcurso de estas transiciones son el origen del espectro de transferencia de carga.

La técnica de UV-Vis aporta poca información estructural, pero por el contrario presenta múltiples aplicaciones en análisis cuantitativo. El cálculo de concentraciones en esta región, mediante la aplicación de la Ley de Beer-Lambert, constituye la base de los métodos de colorimetría [38].



**Figura 8.** Espectrofotómetro de haz sencillo [37]

El intenso color oscuro de las SH es el resultado de la gran variedad de grupos cromóforos y auxocromos, junto con una alta concentración de radicales libres estables, probablemente grupos semiquinonas. Se consideran tres rasgos principales cuando se examina el espectro visible:

- *La extinción específica* (la densidad óptica a concentración constante): este índice (p.ej.  $E_{465}$  nm) se incrementa con la aromaticidad y la madurez, siendo comparativamente baja en la sustancias HA de composts.
- *El índice  $E_{465}/E_{665}$* : este índice refleja la pendiente de la curva espectral completa, que se considera que se incrementa cuando disminuye el tamaño molecular. En algunos casos (por ejemplo, algunos composts urbanos), el tamaño molecular de las sustancias de tipo húmico tiende a decrecer cuando se incrementa la madurez (los precursores son de alto peso molecular) pero no es un comportamiento generalizado.
- *Los patrones espectrales reconocidos tras un aumento de la resolución o la segunda derivada del espectro*: los ácidos húmicos del suelo frecuentemente

muestran los débiles picos indicados anteriormente a 455, 530, 570 y 615 nm, correspondientes a los pigmentos perilenequinónicos de origen fúngico. Estos picos espectroscópicos pueden ser medidos en la segunda derivada del espectro, y en algunos casos son útiles para cuantificar la extensión (en el espacio y en el tiempo) de la sustitución de la materia orgánica original en suelos vírgenes por fuentes externas de materia orgánica de materiales residuales <sup>[2]</sup>.

#### 4. ANTECEDENTES

A continuación se presentan una serie de trabajos publicados a nivel internacional y nacional, los cuales servirán para una mayor comprensión de este escrito, así como para la justificación y soporte del mismo.

En Venezuela y otras partes del mundo, se han realizado diversos trabajos, los cuales están relacionados con el tema de interés. Entre ellos se citan los siguientes:

**Stefanova et al., (1993)** caracterizó los ácidos húmicos de los depósitos de lignito de Bulgaria, en relación a la concentración de grupos funcionales que contienen oxígeno. Los rangos obtenidos muestran una acidez total de 5,1-6,8 meq/g, grupos carboxílicos 3,5-4,5 meq/g, grupos -OH fenólicos 1,6-2,3 meq/g, grupos cetonas 1,0-2,0 meq/g, grupos quinona 1,0-1,3 meq/g y grupos metoxi 0,3-1,3 meq/g <sup>[39]</sup>.

**Francioso et al., (2001)** utilizó las técnicas de FT-IR (Reflectancia Difusa), RMN y RAMAN, para investigar la estructura de los ácidos húmicos extraídos de muestras de turba, lignito y leonardita, demostrando que el contenido de compuestos oxigenados (COOH, C-OH) es mayor para las turbas que para la leonardita y el lignito. Por otro lado, la estructura aromática del lignito y la leonardita tiene diferencias estructurales, por lo que es posible distinguir los ácidos húmicos de cada uno <sup>[40]</sup>.

**Debska et al., (2002)** estudió la influencia de la fertilización con lignitos en las propiedades de los ácidos húmicos extraídos de *háplico luvisol*. Para éste estudio utilizaron como fertilizante una mezcla llamada *Rekulter*, la cual contenía 85% de lignito, 10% de turba y 4% de cenizas de “carbón marrón”. Las características estudiadas para los ácidos húmicos fueron: composición elemental, descomposición térmica y los espectros de infrarrojo y UV-Vis. Se encontró que los ácidos húmicos formados durante el proceso de descomposición del *Rekulter* en el suelo se caracteriza por un alto contenido de carbono (38,6% frente a 35,4%), un menor contenido de nitrógeno (1,50%



frente a 2,73%) y una mayor resistencia a la descomposición térmica, en comparación con los ácidos húmicos extraídos de los suelos sin aplicación del *Rekulter* [5].

**Olivella et al., (2002)** realizaron el estudio de la fracción de ácidos húmicos de Leonarditas encontradas en Torrelapaja, España, utilizando cromatografía de gases (GC-MS) y técnicas espectroscópicas (XPS, XANES), para caracterizar la estructura del carbón y la naturaleza de los compuestos de azufre que se encuentran presentes en este. En este trabajo se encontraron en la estructura de los ácidos húmicos de la Leonardita, productos de compuestos como el tiofeno, metiltiofeno y benzotiofenos, además de compuestos benzocarboxílicos y derivados fenólicos provenientes de la lignina, demostrando así, que la predominancia de las formas oxidadas del azufre está ligada a la naturaleza oxidada de la leonardita estudiada [41].

**Peuravuori et al., (2006)** estudió las características estructurales de un lignito de Moravia del Sur y de la fracción de ácidos húmicos, utilizando las técnicas de UV-Vis, RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , FT-IR y los análisis básicos. Las diferencias estructurales entre el lignito y su fracción de ácidos húmicos fueron relativamente bajas. Los resultados verificaron que se necesitan poderosos solventes apróticos para disolver por completo los ácidos húmicos. Desde el punto de vista del medio ambiente, algunos componentes orgánicos traza (como fenoles), solubles en agua, liberados a partir del lignito original pueden ser problemáticos en áreas rodeadas de depósitos de agua [42].

**Banach et al., (2007)** determinó la composición cualitativa y cuantitativa de los compuestos fenólicos en los extractos de ácidos fúlvicos e hidrolizados de ácidos húmicos aislados de muestras de suelo forestal de Eslovaquia. Los compuestos fenólicos fueron caracterizados utilizando HPLC, demostrando una diferencia en la composición de los compuestos fenólicos en las fracciones de ácidos fúlvicos y ácidos húmicos [43].

**Banach et al., (2008)** determinaron el contenido de compuestos fenólicos en extractos de ácidos fúlvicos y los hidrolizados de ácidos húmicos, de muestras orgánicas y

minerales de suelos forestales de Eslovaquia, en función de su grado de madurez y propiedades. Los compuestos fenólicos fueron identificados utilizando HPLC, demostrando que las fracciones de ácidos fúlvicos mostraron un mayor contenido de aldehídos y ácidos fenólicos, en comparación con los hidrolizados de fracciones de ácidos húmicos.

También demostraron que el grado de madurez de la materia orgánica está conectado con la disminución del contenido de aldehídos y ácidos fenólicos que se producen en los hidrolizados de fracciones de ácidos húmicos y los extractos de ácidos fúlvicos <sup>[44]</sup>.

**Reategui (2008)** realizó el estudio de la movilización de especies químicas orgánicas e inorgánicas por lixiviación de muestras de carbón en distintos estados de madurez (turba, lignito, carbón bituminoso), utilizando técnicas de CG-MS y UV-Vis, además de caracterizar cada una de las muestras de carbón siguiendo la norma ASTM D-3172 (1989) para carbón y coque. En este estudio se encontró que los fenoles tienen alta probabilidad de ser formados y lixiviados durante los primeros episodios del proceso de maduración, sobre todo en el caso de carbones de baja madurez y así mismo, de mayor contenido de humedad <sup>[45]</sup>.

**Asing et al., (2009)** realizaron un estudio de comparación de las características químicas de los ácidos húmicos extraídos de muestras de carbones sub-bituminosos de Mukah, Sarawak; productos comerciales de ácidos húmicos, provenientes de Leonardita; turbas humificadas y varios tipos de abono. La cantidad de ácidos húmicos encontrado en las muestras de carbón sub-bituminoso varió de 1,5% a 11,1%, mientras que en el compost se encontró entre 4,2% y 16,5%. La turba humificada y la leonardita comercial contenía 31,6% y 58,5% de ácidos húmicos, respectivamente. La acidez total de los ácidos húmicos en el compost, fue determinada a través de titulación utilizando hidróxido de bario ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ) y varió entre 5,6 y 9,5 meq/g, para los grupos carboxílicos, se realizó una titulación utilizando acetato de calcio ( $\text{CaCH}_3(\text{COO}^-)_2$ ) obteniendo como

resultado 1,9-3,5 meq/g y los grupos fenólicos, determinados por la diferencia entre la acidez total y los grupos carboxílicos, fue de 3,5-6,2 meq/g. En el análisis de FT-IR de los ácidos húmicos extraídos de los carbones, la leonardita y el compost, se observaron claramente distintas bandas de absorción, que indicaban la presencia de los principales grupos estructurales, tales como H enlazado a OH ( $3400\text{ cm}^{-1}$ ), carbonilo C=O ( $1710\text{ cm}^{-1}$ ), componentes alifáticos CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> ( $2930$ ,  $1420$  y  $1370\text{ cm}^{-1}$ ) y C=C de los anillos aromáticos ( $1620\text{ cm}^{-1}$ ) [46].

**Sao et al., (2010)** realizaron la caracterización de los ácidos húmicos extraídos de muestras de lignito y estiércol (FYM siglas en inglés), a través de métodos químicos y espectroscópicos. Los análisis de FT-IR, la determinación de C, H y N, y los análisis de espectroscopia visible, revelaron diferencias significativas en la composición del lignito y del FYM. La recuperación de ácidos húmicos fue mayor en el lignito que en el FYM. El ácido húmico extraído del FYM contiene más acidez total y mayor contenido de C, H y N que el extraído del lignito. La relación  $E_{465}/E_{665}$  del ácido húmico extraído del FYM fue relativamente inferior a la del ácido húmico extraído del lignito, indicando que hay un predominio de grupos alifáticos en el ácido húmico del lignito [35].

**Caccamo (2011)** [49] determinó la capacidad de adsorción que posee la turba de manglar hacia compuestos orgánicos fenólicos, específicamente el fenol, resorcinol y el pirogalol, a diferentes valores de pH, utilizando la técnica de HPLC, encontrando que la turba de manglar presenta una capacidad moderada para remover compuestos fenólicos de soluciones acuosas (0,22 mg fenol/Kg de turba).

**Ghabbour et al. (2012)** determinaron, a través del método gravimétrico, el contenido de ácidos húmicos en cuatro muestras de lignito comercial y veinticuatro muestras de suelos agrícolas de trece condados de Idaho, encontrando que los lignitos contienen un promedio de 2-41% y los suelos de 0,31-9,8% de ácidos húmicos [47].

**Debnath et al., (2013)** extrajeron los ácidos húmicos y ácidos fúlvicos de muestras de bosque tropical húmedo, de suelos de jardines de té y de suelos tropicales de campo

de cultivo y determinaron su composición química, propiedades potenciométricas y espectrofotométricas. Encontraron menos ácidos húmicos que ácidos fúlvicos en los suelos cultivados. Los ácidos húmicos tienen un mayor contenido de carbono y nitrógeno y una relación mayor de C / H pero menor relación de O / H que los ácidos fúlvicos. Los suelos cultivados tenían mayor acidez total que el suelo forestal en general, debido al contenido de grupos  $\text{COOH}$  y  $\text{OH}$  fenólicos. La relación  $E_{465}/E_{665}$ , en general, reveló una mayor cantidad de restos alifáticos en lugar de restos aromáticos [48].

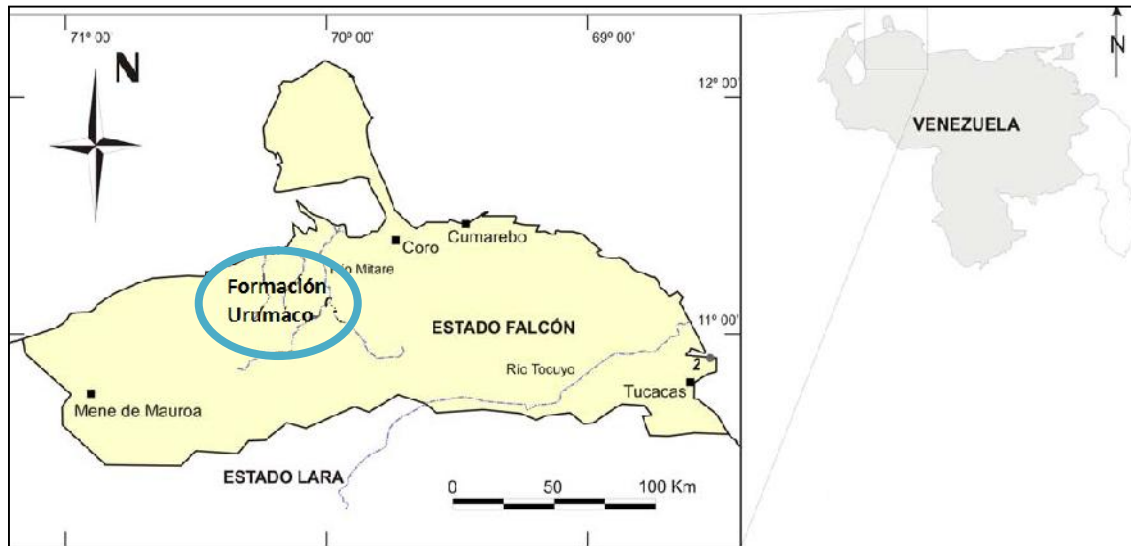
## 5. ZONA DE ESTUDIO

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, se requirió de un material carbonáceo de bajo rango (lignito), el cual fue muestreado a lo largo de una secuencia terciaria presente en la Cuenca de Falcón, específicamente en la Formación Urumaco.

A continuación se describen las características principales de la zona de estudio, según distintos autores.

Según Díaz de Gamero y Linares (1989) <sup>[50]</sup>, el espesor de la sección tipo varía entre 1.700 y 2.000 m, de acuerdo a la selección de los contactos. Disminuye de espesor tanto al oeste, donde la intensa deformación impide obtener espesores confiables, como al este donde alcanza 1.045 m en la quebrada El Paují. La edad de la Formación Urumaco es Mioceno tardío. Según Hambalek, et al. (1994) <sup>[51]</sup>, en la sedimentación de la Formación Urumaco predominaron los ambientes próximo-costeros, con tasas de sedimentación relativamente bajas. A lo largo de toda la formación están representados depósitos de barreras litorales arenosas y/o calcáreas, lagunas litorales salobres, marismas, llanuras de mareas y, en menor grado llanuras costeras con depósitos paludales de agua dulce. Todos estos depósitos soportaron una densa vegetación boscosa de bosques pluviales o de manglares, según la influencia mareal en el área.

La Formación Urumaco descansa concordante y transicionalmente sobre la Formación Socorro. En la sección tipo, Díaz de Gamero y Linares (1989) <sup>[50]</sup> definen el contacto inferior en el tope de una potente arenisca con *Ophiomorpha nodosa* que infrayace a la primera caliza coquinoide típica de la Formación Urumaco y que es seguida por areniscas de reducido espesor individual. La Formación Urumaco se reconoce entre los ríos Zazárida y Lagarto, al oeste y el río Mitare al este, en el noroeste del Estado Falcón (Figura 9).



**Figura 9.** Ubicación de la zona de estudio

### 5.1. Descripción litológica

Según Díaz de Gamero y Linares (1989) <sup>[50]</sup>, la sección tipo se compone de la siguiente secuencia litológica (Figura 10):

#### **Miembro inferior lutítico-limoso:**

El litotipo más abundante se encuentra constituido por lutitas, de las cuales se presentan dos tipos, que ocurren igualmente en toda la formación. Las más comunes y de mayores espesores individuales son de color gris, macizas, de fractura concoidea, muy escasamente microfossilíferas, a veces limolíticas y ocasionalmente portadoras de restos de madera fosilizada. Las segundas son de color marrón, laminadas, extremadamente ricas en material vegetal finamente fragmentado, a veces carbonosa. Las capas no sobrepasan los 2 m de espesor y son las principales portadoras de fósiles de vertebrados en la formación, aunque estos son raros en el miembro inferior.

Las limolitas varían de 0,3 a 8 m de espesor, muy bioturbadas, con concreciones ferruginosas y madrigueras, observándose ocasionalmente laminación paralela. Forman paquetes intercalándose con areniscas y lutitas y sus contactos son transicionales o abruptos con costras ferruginosas. Las areniscas son de espesor variable, desde unos centímetros hasta 5 ó 6 m. Son masivas, micáceas, friables, con abundante bioturbación y madrigueras, concreciones ferruginosas y costras de oxidación en el tope de las capas. Muestran estratificación paralela y cruzada planar. Contienen restos de conchas en la parte superior del miembro.

A muy pocos kilómetros en dirección este, al sur de Urumaco, hay un gran aumento en la cantidad de calizas, areniscas conchíferas y grado general de bioturbación, además de presencia de varios niveles de carbón <sup>[50]</sup> <sup>[52]</sup>.

#### **Miembro medio lutítico-arenoso-calcáreo:**

Las lutitas son semejantes a las del miembro inferior. Las de color gris son microfosilíferas, bioturbadas, con concreciones ferruginosas y un mayor contenido carbonoso que las correspondientes del miembro anterior, concentrado en delgados niveles o lentes. Las lutitas marrones son relativamente más abundantes, portadoras de restos de vertebrados variados: reptiles, mamíferos y peces, así como coprolitos y restos de madera fosilizada. A veces gradan hacia arriba a limolitas, intensamente bioturbadas con enrejados talasinoides.

Las calizas varían entre 0,5 y 4 m de espesor, excepcionalmente hasta 6 m. Van de areniscas conchíferas hasta calizas coquinoides consolidadas arenosas, frecuentemente bioturbadas, con concreciones ferruginosas y costras ferruginosas en el tope de las capas. Las calizas son muy numerosas en la mitad inferior de este miembro. Contienen una abundante y medianamente variada fauna de moluscos en matriz arenosa, fragmentados y con variedad de tamaños. Hacia la parte superior del miembro, las calizas son más arenosas, menos abundantes y más delgadas.

Las areniscas hacia la parte inferior del miembro, son de grano fino a medio, friables, masivas, en espesores de 2 a 10 m, de contacto basal erosivo, a veces con material conglomerático y clastos de arcilla en la base y costra de oxidación en el tope; estratificación cruzada planar y festoneada a gran escala, con ángulos de 20 a 30 grados, disminuyendo hacia el tope y pasando a estratificación paralela, flaser y ondulada; bioturbadas, con madrigueras verticales hacia el tope de las capas; con poca extensión lateral y generalmente asociadas a capas carbonosas de hasta 1 m de espesor en la base. Otro tipo es de grano fino, en capas inferiores a 3 m de espesor, laminadas o con estratificación paralela, gruesas costras de oxidación en el tope y contactos abruptos <sup>[50]</sup> <sup>[52]</sup>.

#### **Miembro superior lutítico-arenoso:**

Las lutitas son más abundantes hacia la parte superior, generalmente de color gris, frecuentemente limosas, intercaladas con delgadas areniscas con costras de oxidación y niveles carbonosos. Las lutitas marrones, portadoras de vertebrados, son más escasas y delgadas, hasta 0,3 m, en este miembro. Las limolitas, tanto arenosas como arcillosas tienen espesor promedio de 2 m, a veces en paquetes hasta de 6 m, intercaladas con areniscas y horizontes ferruginosos; sus contactos inferiores suelen ser transicionales y los superiores, abruptos.

Las areniscas en la parte inferior son disgregables, de grano fino a medio, con espesores promedios de 3 a 7 m, o laminares en capas de pocos centímetros entre lutitas y limolitas, a veces calcáreas y conchíferas; estratificación cruzada y festones a pequeña escala, estratificación flaser; rizaduras en el tope y laminación convoluta hacia la base; las estructuras y el tamaño del grano disminuyen hacia arriba, que suele mostrar estratificación paralela; bioturbación y concreciones ferruginosas; contactos abruptos o transicionales. Hacia arriba en la sección son de 1 a 2 m de espesor; masivas, de contactos inferior erosivo, pasando hacia arriba a laminación paralela, rara



vez cruzada de ángulo bajo, laminación flaser y lenticular y finalmente limosas, en espesores delgados, intercaladas con limos y arcillas, con concreciones y horizontes ferruginosos. Al este del río Cauca las lutitas grises son escasamente microfosilíferas y hay numerosos niveles de lutitas marrones portadoras de vertebrados. También hay algunas areniscas conchíferas hacia el tope del miembro. La distribución de areniscas en este miembro es bastante variable lateralmente, en cortas distancias, ya que abundan las fuertemente lenticulares de base erosiva, tipo canal. Se han mencionado en la literatura una o varias discordancias en este miembro, que son tan solo efecto de las relaciones de corte y relleno de estas areniscas.

Petrográficamente, las areniscas son de tipo sublitarenitas, a veces calcáreas y algunas wacas líticas, ocasionalmente calcáreas. Los fragmentos de roca son chert, filitas y esquistos. La diagénesis alcanzada es la de grado intermedio. Las calizas, que también alcanzaron una diagénesis intermedia, son predominantemente de tipo granular con lodo, con algunas lodogranulares. Las calizas contienen bivalvos, algas, gastrópodos, equinodermos y foraminíferos, con cuarzo entre un 15 y un 40% <sup>[50]</sup> <sup>[52]</sup>.

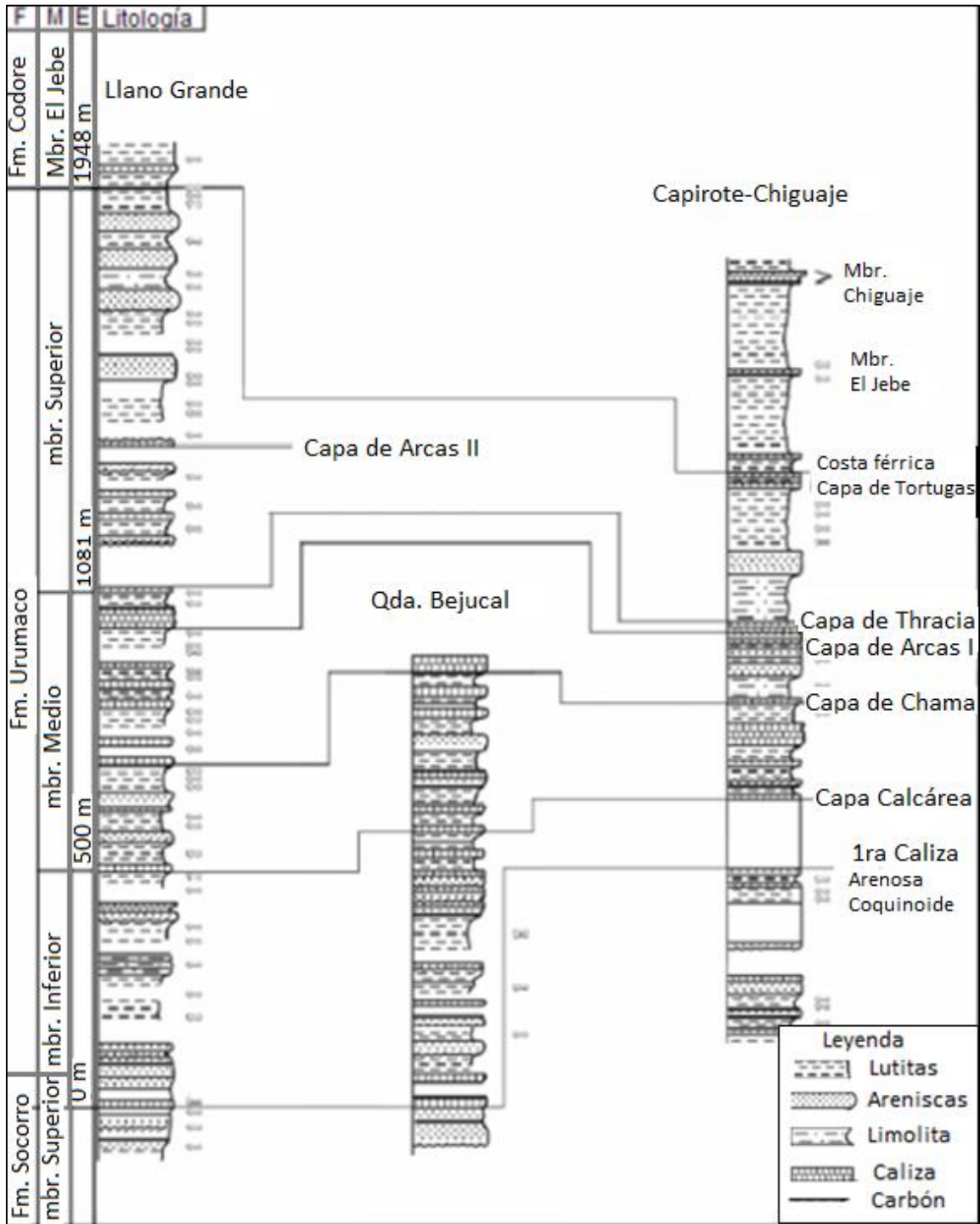


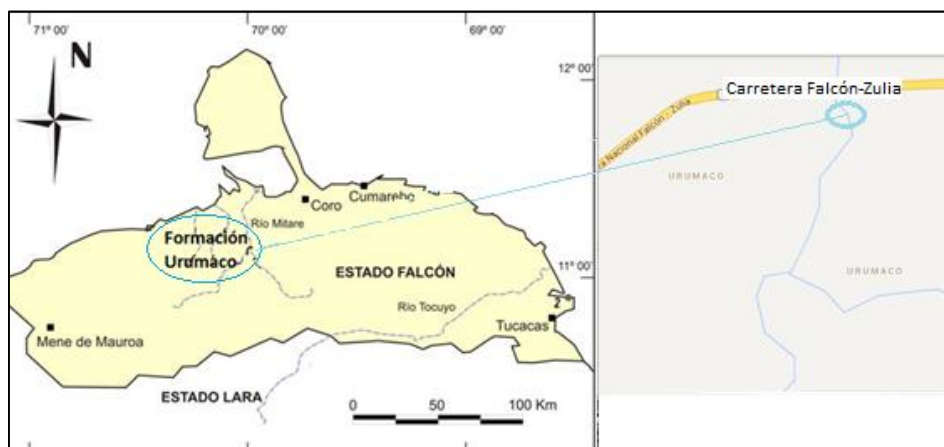
Figura 10. Columnas estratigráficas en el área de Urumaco [50]

## 6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 6.1. Toma de muestras

Las muestras utilizadas en el presente trabajo fueron suministradas por el Laboratorio de Geoquímica Orgánica del Instituto de Ciencias de la Tierra-UCV, las cuales consistieron en dos muestras de carbón fuertemente meteorizado identificadas con los rótulos FU-CAR y FUP-1. Estas muestras se encontraban pulverizadas a una fracción granulométrica de 200 mallas.

Las muestras fueron colectadas previamente en campañas ejecutadas durante los años 2006 (FU-CAR) y 2009 (FUP-1). Ambas muestras fueron colectadas en afloramiento a lo largo del Río Urumaco, a 100 m del puente (aguas arriba) del Río Urumaco de la Carretera Falcón- Zulia, estado Falcón Venezuela (figura 11). Las muestras corresponden al mismo manto de carbón (capa de dos metros de espesor aproximadamente), pero en distinta ubicación lateral. Aunque no se dispone de la información sobre el nivel estratigráfico específico del manto de carbón colectado, se conoce que este se encuentra ubicado en el Miembro Superior de la Formación Urumaco.



**Figura 11.** Ubicación del punto de muestreo

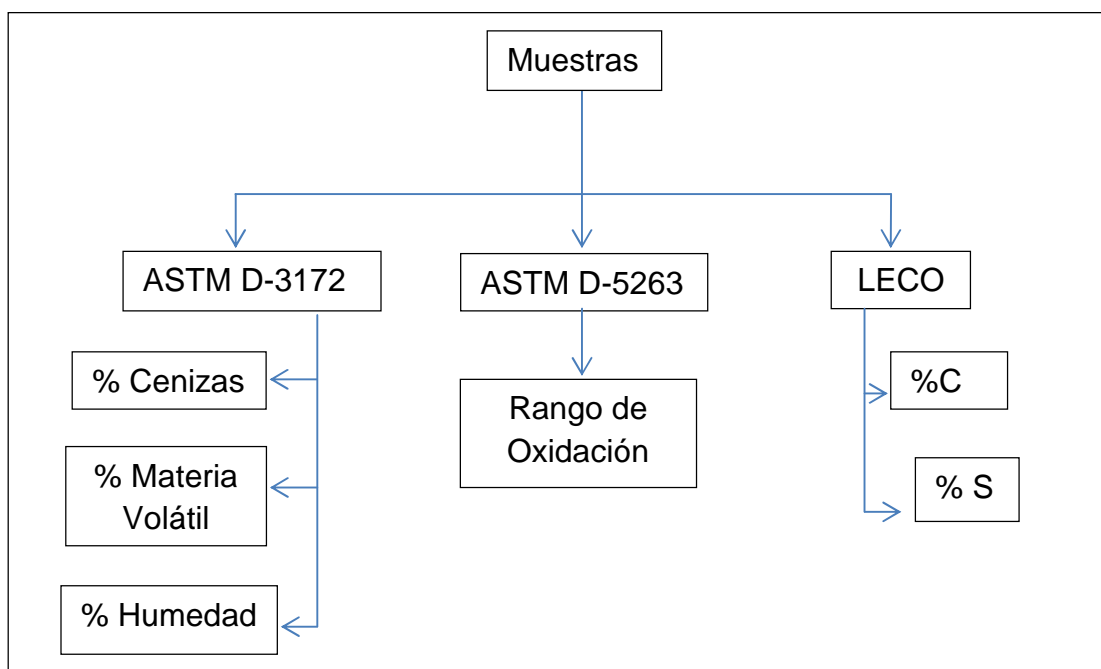
## 6.2. Análisis de las muestras

La metodología experimental, utilizada para la caracterización de las SH extraídas de las dos muestras de lignito fue dividida en tres etapas: análisis inmediato, extracción de las SH y análisis químico de las SH extraídas.

### 6.2.1. Análisis inmediato

Los análisis inmediatos abarcan la determinación de los principales componentes de la muestra de carbón, como lo son: humedad, materia volátil, cenizas y carbono fijo, así como sus proporciones en peso. La determinación de estos componentes permite clasificar al carbón en los rangos propuestos en la ASTM (1990), las cuales son aplicadas a combustibles fósiles, carbón y coque.

El análisis inmediato fue realizado, para las dos muestras, siguiendo el esquema mostrado en la Figura 12.



**Figura 12.** Esquema del procedimiento experimental para análisis inmediato

### 6.2.1.1. Humedad (ASTM D-3173)

Se tomó una alícuota de 1,000 g de ambas muestras pulverizadas y se colocó cada una en un crisol de porcelana, previamente pesado. Luego, el material fue llevado a una temperatura de 105 °C en una estufa durante 1 hora y enfriado el mismo tiempo. Se pesó el residuo y se llevó a peso constante. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada muestra. La determinación del contenido de humedad se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{(P_0 - P_f)}{P_0} * 100$$

Donde: %H: Porcentaje de humedad

P<sub>0</sub>: Peso inicial de la muestra

P<sub>f</sub>: Peso final de la muestra

### 6.2.1.2. Cenizas (ASTM D-3174)

Este parámetro es determinado sobre base libre de humedad, por lo que se realizó el análisis sobre el material obtenido luego de la determinación de humedad. Dicho material se llevó a una temperatura de 750°C en una mufla durante 4 horas. Se pesó el residuo frío y se llevó a peso constante. Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra. El contenido de cenizas se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\%Cen = \left[ \frac{P_{OBLH} - (P_{OBLH} - P_F)}{P_0} \right] * 100$$

Donde: P<sub>o(blh)</sub>: Peso inicial de la muestra (base libre de humedad)

P<sub>f</sub>: Peso final de la muestra

P<sub>0</sub>: Peso inicial de la muestra (base húmeda)

### 6.2.1.3. Materia Volátil (ASTM D-3175)

Se tomó una alícuota de 1,000 g de las muestras originales de carbón y se colocaron dentro de un crisol de porcelana previamente pesado. Luego, se llevó a una temperatura de 950°C en una mufla durante 7 minutos, una vez transcurrido este tiempo, las muestras se dejaron enfriar y se pesaron. Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra. La determinación del contenido de materia volátil se realizó con la siguiente expresión:

$$\%M.V. = \left[ \frac{(P_0 - P_f)}{P_0} \right] * 100$$

Donde: %M.V.: Porcentaje de materia volátil

P<sub>0</sub>: Peso inicial de la muestra

P<sub>f</sub>: Peso final de la muestra

### 6.2.1.4. Azufre total (%S)

Para la determinación de azufre total se utilizó un analizador de azufre elemental marca LECO, modelo SC-432 (Figura 13), a través del modelo de combustión seca. Para realizar este análisis se pesó aproximadamente 200 mg de la muestra pulverizada, en un bote de porcelana, la cual se introdujo en el horno del equipo a 1350°C. Una corriente de oxígeno produce la combustión total de la muestra, generando SO<sub>2</sub>, el cual es llevado a un detector de infrarrojo que mide la absorción correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace S=O. Por último, un procesador digitaliza la señal, arrojando el resultado directo del porcentaje de azufre en la muestra. Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra.



**Figura 13.** Analizador elemental LECO SC-432

#### **6.2.1.5. Carbono total (%C.T.)**

Para la determinación de carbono total se utilizó un analizador de carbono elemental marca LECO, modelo C-144 (Figura 14), a través del modelo de combustión seca. Para realizar este análisis se pesó aproximadamente 100 mg de la muestra pulverizada, en un bote de porcelana, la cual se introdujo en el horno del equipo a 1350°C. Una corriente de oxígeno produce la combustión total de la muestra, generando CO<sub>2</sub>, el cual es llevado a un detector de infrarrojo que mide la absorción correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O. Por último, un procesador digitaliza la señal, arrojando el resultado directo del porcentaje de carbono en la muestra. Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra.

El contenido de carbono fijo (% C. fijo) se determina a partir del contenido de carbono total de la siguiente forma:

$$\% C. fijo = \%C.T. - \%Cenizas - \%M.V.$$



**Figura 14.** Analizador elemental LECO C-144

**6.2.1.6. Determinación del grado relativo de oxidación del carbón (ASTM D-5263)**

Se tomaron alícuotas de 1,000 g de las muestras y se colocaron en beakers de 400 mL. Se añadió 100 mL de una solución de NaOH 1 N y una gota de octilfenoxipolietoxietanol (agente tensoactivo no iónico) a cada solución. Las soluciones se calentaron hasta 98°C durante 3min con agitación constante. Luego de transcurrido este tiempo, se dejaron enfriar las soluciones durante 30 min a temperatura ambiente. Se filtraron por gravedad y se llevaron a un volumen de 100 mL.

Se determinó la absorbancia de cada una de las soluciones, utilizando un espectrofotómetro marca Thermo Spectronic, a una longitud de onda de 520nm (Figura 15).



**Figura 15.** Espectrofotómetro de UV-Vis



Esta determinación se realizó por triplicado para cada muestra.

Para la obtención del grado relativo de oxidación de la muestra, se determinó la transmitancia a 17 mm, la cual se calculó con las siguientes expresiones:

$$A_{17} = A_x \left( \frac{17\text{mm}}{b_x} \right)$$

$$T_{17} = (10^{-A_{17}}) * 100$$

Donde:  $A_{17}$ : Absorbancia a 17mm de paso de luz

$T_{17}$ : Transmitancia (calculada) a 17mm de paso de luz

$A_x$ : Absorbancia obtenida experimentalmente a 520nm

$b_x$ : Paso óptico utilizado experimentalmente (mm).

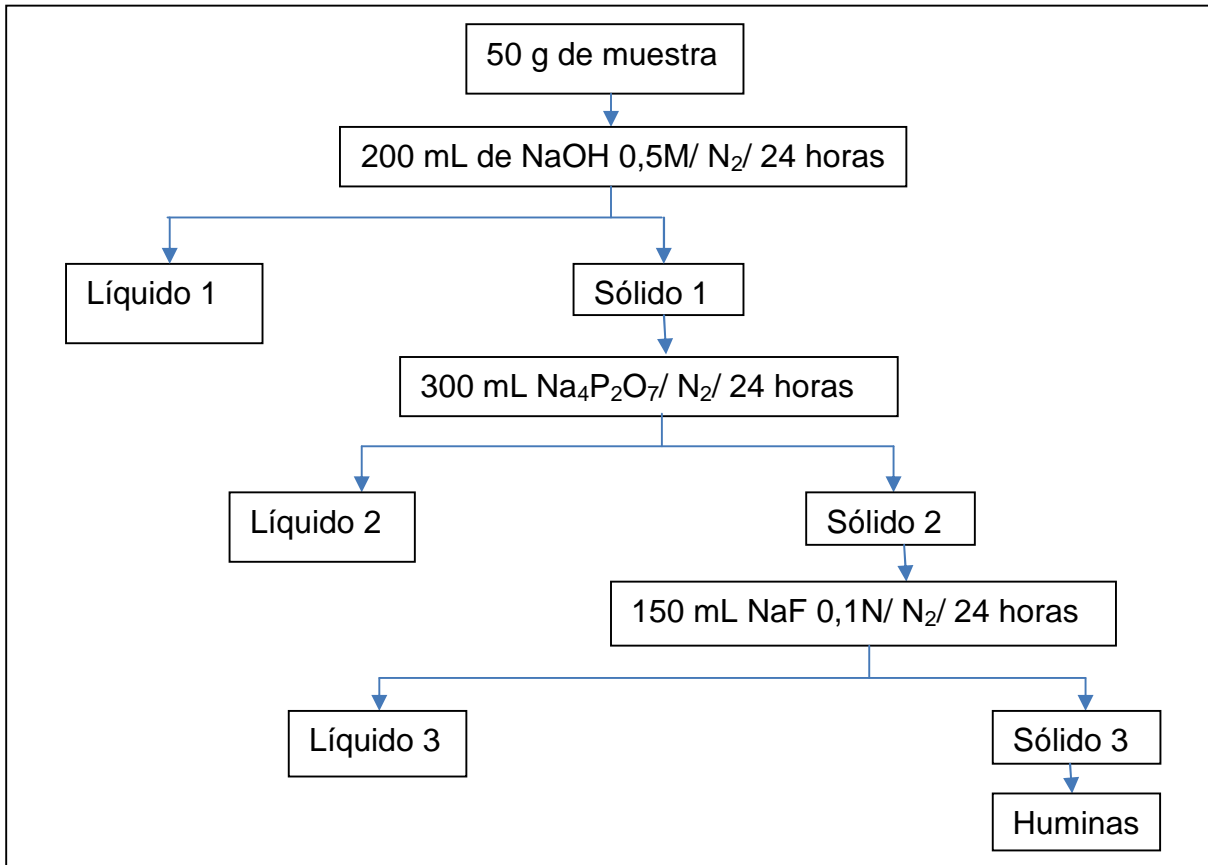
Una vez obtenido el valor de  $T_{17}$ , se determinó el grado relativo de oxidación del carbón, según la siguiente tabla

**Tabla 4.** Datos de niveles de oxidación relativos del carbón <sup>[53]</sup>

<b>Transmitancia a 520nm 17-mm de paso de luz</b>	<b>Interpretación</b>
<b>&gt;90</b>	Carbón no oxidado
<b>80-90</b>	Carbón posiblemente oxidado
<b>&lt;80</b>	Carbón oxidado

### 6.2.2. Extracción de las sustancias húmicas

La extracción de las sustancias húmicas en las muestras de lignito se llevó a cabo siguiendo la metodología que se muestra en la figura 16.



**Figura 16.** Procedimiento experimental para la extracción de las sustancias húmicas

Aproximadamente 50 g de la muestra pulverizada se colocó en una fiola de 500 mL, se añadió 200 mL de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,5 M, se agitó la mezcla durante 24 horas, en atmósfera inerte (burbujeo suave con N<sub>2</sub>) y una vez transcurrido este tiempo, la mezcla fue centrifugada a 2500 rpm durante 15 minutos. La solución fue decantada, conservando el líquido 1 y colocando el sólido 1 nuevamente en la fiola inicial. Luego se realizó una segunda extracción agregando 300 mL de Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,1 N al sólido 1, dejándolo en agitación durante 24 horas en atmósfera inerte, después de lo cual se realizó el centrifugado de esta. Por último, al sólido 2 se le realizó una tercera extracción, agregando 150 mL de NaF 0,1 N, dejándolo en agitación por 24

horas, en atmósfera inerte, después de lo cual se centrifugó (Figura 16). Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado para cada muestra

La utilización del NaOH permitió extraer el 80% de las sustancias húmicas en las muestras de carbón. Debido a que éste es un extractante fuerte, para realizar esta primera extracción se colocó el sistema en atmósfera inerte, utilizando un sistema de burbujeo de  $N_2$  (Figura 17), de esta forma se evitó la auto-oxidación de algunos constituyentes orgánicos que se producen al contacto con el aire [24].



**Figura 17.** Sistema de extracción de sustancias húmicas, con atmósfera inerte

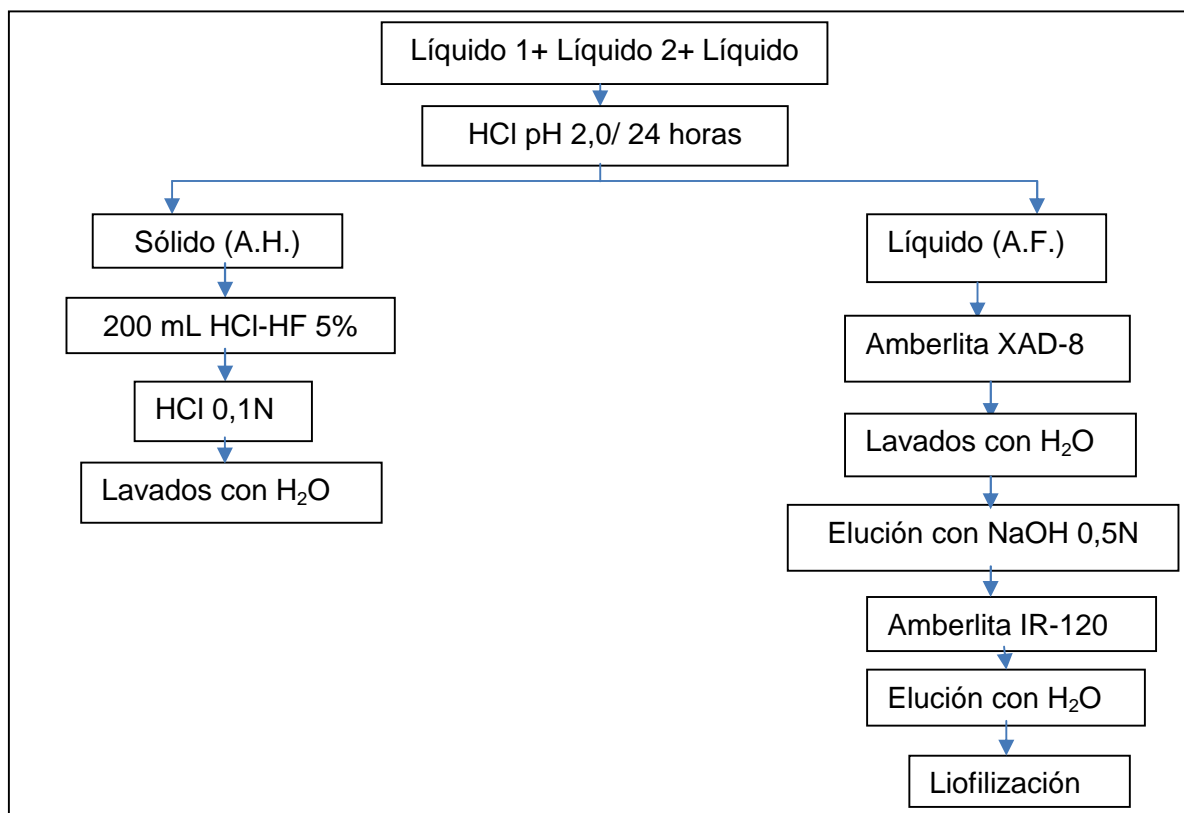
El segundo paso que se utilizó para la extracción de las sustancias húmicas, incluyó la utilización de pirofosfato de sodio (extractante medio). La materia orgánica se encuentra floculada debido a la presencia de algunos cationes como el  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  y  $Al^{3+}$ , y el pirofosfato de sodio permite inactivar dichos iones, formando precipitados insolubles o complejos de coordinación solubles, manteniendo la materia orgánica inalterada [24].

Finalmente, la utilización del NaF permite la extracción de aproximadamente un 30% de las sustancias húmicas que no fueron extraídas en los pasos previos.

Buckert et al 1987 [54] indicó que la combinación de varios reactivos es más efectiva para la extracción de las sustancias húmicas, debido a las características del enlace órgano-mineral que tienen con el coloide inorgánico.

El sólido insoluble, obtenido como residuo en las tres extracciones contiene la fracción denominada como Huminas. Esta fracción fue secada en una estufa a 100°C durante 4 horas, posteriormente se enfrió hasta temperatura ambiente en un desecador y luego fue pesada. Este tratamiento se realizó para cada muestra y sus réplicas. Para la determinación del contenido de huminas en las muestras, se procedió a la determinación del carbono total del residuo.

Las tres muestras líquidas se mezclaron y se acidificaron hasta pH 2,0 con HCl concentrado. La mezcla se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego fue centrifugada. Se procedió a separar los ácidos húmicos (sólido) de los fúlvicos (líquido), como se muestra en la figura 18.



**Figura 18.** Procedimiento experimental para la separación y purificación de los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos

La purificación de los ácidos húmicos se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Debska et al. (2002) <sup>[5]</sup>.

Los ácidos húmicos fueron purificados tratándolos con 200 mL de una mezcla de HCl-HF al 0,5%, durante un periodo de 24 horas, logrando eliminar así, los contaminantes provenientes de las fracciones minerales (arcillas). Luego fueron centrifugados y se lavaron dos veces con HCl 0,1 M, permitiendo la eliminación de los cationes polivalentes que se encuentran como contaminantes en las muestras. Después se lavaron con agua deionizada hasta quedar libres de cloruro (prueba de  $\text{AgNO}_3$ ) <sup>[5]</sup> <sup>[52]</sup>. Los ácidos húmicos fueron secados a temperatura ambiente para evitar la descomposición del material. La fracción de ácidos húmicos mostró un color negro, a diferencia de la fracción de ácidos fúlvicos, la cual mostraba un color marrón muy claro.

La solución que contenía los ácidos fúlvicos se pasó a través de una columna rellena con la resina hidrofóbica denominada Amberlita XAD-8 (polimetilmetacrilato), donde los compuestos más hidrofílicos (aminoácidos, azúcares, etc), pasan a través de la columna y los componentes hidrofóbicos (AF) se retienen en la resina (Figura 19), lavando con agua deionizada hasta que el líquido eluido se encontrara libre de cloruros (prueba de  $\text{AgNO}_3$ ), separando así la fracción de los ácidos fúlvicos del material no húmico. Luego se eluyeron los fulvatos con una solución de NaOH 0,5 M.



**Figura 19.** Purificación de ácidos fúlvicos con la resina Amberlita XAD-8

Posteriormente, los ácidos fúlvicos se hicieron pasar a través de una columna rellena con la resina de intercambio catiónico (Amberlita IR-120) para reemplazar así, el  $\text{Na}^+$  por el  $\text{H}^+$ , eluyéndolos con agua deionizada, obteniendo 100 mL aproximados de solución. (Figura 20).



**Figura 20.** Purificación de los ácidos fúlvicos con la resina Amberlita IR-120

Las soluciones obtenidas se rotavaporaron a 60°C hasta obtener aproximadamente 25 mL de solución. Las soluciones resultantes fueron liofilizadas, en un equipo marca LABCONCO FreeZone 12, ubicado en el Instituto de Estudios Avanzados (IDEA) (figura 21), para obtener finalmente los ácidos fúlvicos sólidos.



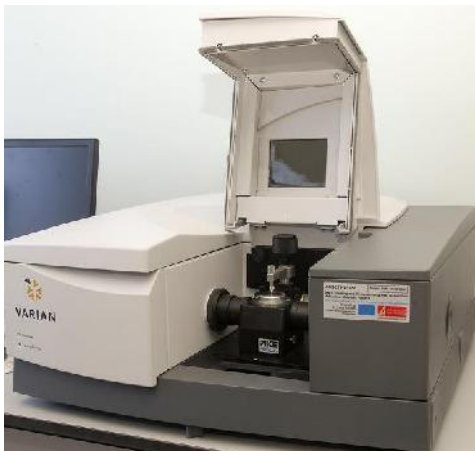
**Figura 21.** Equipo de liofilización LABCONCO

### **6.2.3. Análisis químicos de los ácidos húmicos y fúlvicos**

Para el estudio químico de los ácidos húmicos y fúlvicos se utilizaron cuatro técnicas analíticas, las cuales son descritas a continuación:

#### **6.2.3.1. Análisis con FT-IR**

Para este análisis se utilizó aproximadamente 2 mg de la muestra pulverizada y seca. La muestra fue colocada sobre un cristal de SeZn, en un accesorio de ATR (Attenuated Total Reflectance). La muestra fue analizada en un espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR), marca Varian 640 (Figura 22), en un rango de  $600\text{cm}^{-1}$  a  $4000\text{cm}^{-1}$ , obteniendo así, los grupos funcionales principales que se encuentran en la muestra estudiada.



**Figura 22.** Espectrómetro de FT-IR con accesorio ATR

#### **6.2.3.2. Análisis con UV-Vis**

Los índices  $E_{465}/E_{665}$  de las muestras y sus réplicas, fueron determinados según la metodología propuesta por Chen et al. (1977) [55].

Una vez separados los ácidos húmicos de los ácidos fúlvicos, se amortiguaron todas las soluciones a pH 8,2, utilizando NaOH 0,1 N. A la solución básica que contenía a los ácidos fúlvicos se le determinó la absorbancia a 465nm y 665nm. La solución básica que contenía a los ácidos húmicos fue diluida 20 veces y a esta solución se le determinó la absorbancia a 465nm y 665nm. Para este análisis se utilizó un espectrofotómetro marca Thermo Spectronic (Figura 15). En este estudio se obtuvieron las relaciones  $E_{465}/E_{665}$ , con los cuales se estableció el grado de aromaticidad de los ácidos extraídos [5].



### 6.2.3.3. Determinación de acidez total y del grupo carboxílico

Para la determinación de la acidez total y del grupo carboxílico se utilizó la metodología descrita por Kononova et al 1966 <sup>[56]</sup>.

En la determinación de la acidez total se pesó aproximadamente 50 mg de las muestras de ácidos húmicos y 20 mg de las muestras de ácidos fúlvicos. Se agregó 10 mL de hidróxido de bario  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  0,2 N, y se agitó esta suspensión durante 24 horas. Luego de transcurrido este tiempo, la solución se filtró y se tituló potenciométricamente con HCl 0,5 N, hasta alcanzar un pH 8,4. Se determinó la acidez total utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez Total (mmol H}^+\text{/g de S.H)} = \frac{(V_{A1}-V_{A2}) \times C_A \times 1000}{m_{S.H.}}$$

Donde:  $V_{A1}$ = Volumen del ácido utilizado para la titulación del  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ .

$V_{A2}$ = Volumen del ácido utilizado para la titulación de la sustancia húmica.

$m_{S.H.}$ = masa de la sustancia húmica utilizada.

$C_A$ = Concentración del ácido utilizado.

Para la determinación de la acidez del grupo carboxílico se pesó aproximadamente 50 mg de las muestras de ácidos húmicos y 20 mg de las muestras de ácidos fúlvicos y se agregó 10 mL de acetato de calcio 1,0 N. Esta solución fue agitada por 24 horas. Luego de transcurrido este tiempo, se filtró la solución y se tituló potenciométricamente con NaOH 0,5 N hasta pH 9,8 <sup>[56]</sup>. Se determinó los grupos carboxílicos utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Grupos Carboxílicos (mmol H}^+\text{/g de S.H)} = \frac{(V_{B2}-V_{B1}) \times C_B \times 1000}{m_{S.H.}}$$

Donde:  $V_{B1}$ = Volumen de la base utilizada para la titulación del NaOH.

$V_{B2}$ = Volumen de la base utilizada para la titulación de la sustancia húmica.

$m_{S.H.}$ = masa de la sustancia húmica utilizada.

$C_B$ = Concentración de la base utilizada.

La concentración de fenoles se calculó a partir de la diferencia de la acidez total y los grupos carboxílicos <sup>[47]</sup>.

#### **6.2.3.4. Extracción, identificación y cuantificación de fenoles por HPLC**

Para la identificación y cuantificaciones de fenoles en los extractos de ácidos húmicos y fúlvicos, se utilizó la metodología descrita por Banach et al 2008 <sup>[44]</sup>.

##### **Extracción de fenoles**

Para la extracción de los fenoles de la fracción de ácidos húmicos se tomó aproximadamente 100 mg de las muestras sólidas de ácidos húmicos (y sus triplicados) y se trataron con 15 mL de HCl 6 M y se colocaron en un reflujo a 120°C durante 16 horas. Una vez transcurrido este tiempo, se realizaron tres extracciones sucesivas a la solución obtenida, con 30mL de acetato de etilo cada una. La fase orgánica fue guardada para su posterior análisis por HPLC.

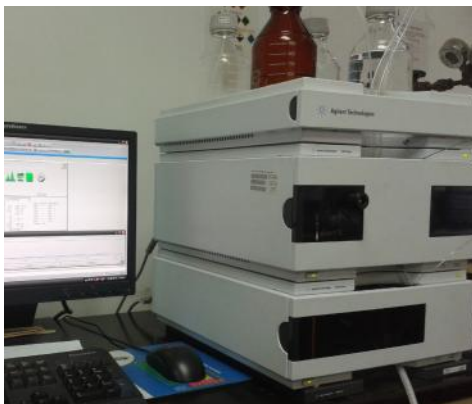
Para la extracción de fenoles de la fracción de ácidos fúlvicos, se tomó el sólido obtenido por liofilización de la fracción que contenía a los ácidos fúlvicos y se disolvió con 15 mL de HCl 6 M. Posteriormente, se realizaron tres extracciones con 80 mL de acetato de etilo cada una. La fase orgánica obtenida fue guardada para su posterior análisis por HPLC.

El solvente orgánico de los extractos fenólicos, obtenidos a partir de la fracción de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, fue volatilizado por completo y la muestra, fue redisuelta en 5 mL de metanol grado HPLC.

## Identificación y cuantificación de fenoles

Para el análisis cromatográfico se utilizó un equipo de HPLC marca Agilent, serie 1200 (Figura 23) con detector de Arreglo de Diodos (DAD Agilent), y una columna de fase reversa Zorbax C18 ( $5\mu\text{m}$ ,  $4.6 \times 150 \text{ mm}$ ), utilizando las siguientes condiciones:

- $\lambda$ : 254nm.
- Fase móvil A:  $\text{H}_2\text{O}$ :  $\text{CH}_3\text{CN}$ :  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (84:14:2).
- Fase móvil B:  $\text{CH}_3\text{CN}$ .
- Flujo: 1,0 mL/min.
- Gradiente: 100% fase A y a 49 min 10% fase B.



**Figura 23.** Equipo de HPLC Agilent

Se identificaron los ácidos gálico y salicílico y la vainillina, en las muestras de ácidos húmicos y fúlvicos, a partir de la comparación de los tiempos de retención de los picos observados en la muestra con los picos observados en la inyección de patrones de compuestos fenólicos. Una vez identificados los compuestos fenólicos encontrados, fueron cuantificados mediante una curva de calibración externa.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Se realizó la síntesis del ácido 2,4-dihidroxibenzoico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido vanílico y del ácido protocateuico, sin embargo, debido a la complejidad de dichas síntesis, no se obtuvieron los productos deseados.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Análisis inmediato

Con el fin de caracterizar las muestras de carbón identificadas como FUP-1 y FU-CAR, se realizaron los análisis inmediatos descritos en la sección 6.2.1.

Al realizar el análisis inmediato de las dos muestras de lignito, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 5.

**Tabla 5.** Resultados obtenidos para el análisis inmediato de las muestras de lignito

	FU-CAR				FUP-1			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
<b>% H</b>	9,95 ± 0,07	10,02 ± 0,07	10,19 ± 0,06	10,05 ± 0,06	3,20 ± 0,02	3,10 ± 0,02	3,20 ± 0,02	3,2 ± 0,1
<b>% M.V.</b>	40,492 ± 0,007	40,484 ± 0,007	40,665 ± 0,007	40,5 ± 0,1	48,291 ± 0,003	47,092 ± 0,003	47,879 ± 0,003	47,8 ± 0,6
<b>% Cenizas</b>	13,638 ± 0,001	12,927 ± 0,001	11,514 ± 0,001	13 ± 1	4,672 ± 0,001	4,410 ± 0,001	5,122 ± 0,001	4,7 ± 0,4
<b>% C fijo</b>	35,92 ± 0,02	37,81 ± 0,02	37,12 ± 0,02	37 ± 1	43,84 ± 0,02	45,40 ± 0,02	43,79 ± 0,02	44,3 ± 0,9
<b>% C.T.</b>	52,37 ± 0,01	52,41 ± 0,01	51,21 ± 0,01	52,0 ± 0,7	75,59 ± 0,01	75,55 ± 0,01	75,42 ± 0,01	75,52 ± 0,09
<b>% S</b>	6,41 ± 0,01	6,87 ± 0,01	6,55 ± 0,01	6,6 ± 0,2	1,20 ± 0,01	1,24 ± 0,01	1,21 ± 0,01	1,22 ± 0,02
<b>Rango de oxidación (T<sub>17</sub>)</b>	<80 (oxidado)				<80 (oxidado)			

Nota: %H: Contenido de humedad, %M.V.: contenido de materia volátil, %C fijo: contenido de carbono fijo, %C.T.: contenido de carbono total, %S: contenido de azufre.

Según los resultados mostrados en la tabla 4, la muestra FUP-1 puede ser clasificada, según la norma ASTM-D-388-777, como un carbón que va de Sub-Bituminoso a Lignítico, altamente oxidado.

La muestra denominada FU-CAR, corresponde a un carbón del tipo lignítico altamente meteorizado o leonardita. Como indica Martínez et al 1992 <sup>[57]</sup>, la muestra de carbón meteorizada presenta un aumento en el contenido de humedad y de cenizas. El aumento del contenido de humedad se puede atribuir a un aumento de grupos funcionales oxigenados en la estructura del carbón oxidado, que contribuye en el aumento de la polaridad del mineral. El incremento de los grupos polares oxigenados permite la adsorción de moléculas de agua adicionales a la macro estructura mediante las interacciones dipolo-dipolo. Las cenizas incrementan en forma relativa, debido a la pérdida de materia orgánica como CO<sub>2</sub> y CO y sustancias húmicas. Por otro lado, el aumento significativo en el contenido de azufre en la muestra FU-CAR, en comparación con la muestra FUP-1, es consecuencia del grado de alteración por meteorización, lo cual pudo permitir la acumulación de materiales sulfatados en forma de eflorescencias típicas de los carbones meteorizados. Este resultado concuerda con el encontrado por Oliveilla et al. (2002) <sup>[41]</sup>, donde las muestras de leonarditas analizadas por estos autores presentaron un alto contenido de compuestos azufrados como el tiofeno, metiltiofeno y benzotiofenos.

## **7.2. Extracción de las sustancias húmicas**

Al realizar el procedimiento de extracción de las sustancias húmicas en las muestras de lignito y sus triplicados, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 6.

**Tabla 6.** Contenido de sustancias húmicas en las muestras de lignito

	FUP-1				FU-CAR			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
<b>% Residuo ± 0,0002</b>	97,4550	97,4436	97,6827	97,5 ± 0,1	77,8048	78,0984	80,1930	79 ± 1
<b>% C.T. ± 0,01</b>	66,83	67,32	66,96	67,0 ± 0,3	59,94	59,86	58,52	59,4 ± 0,8
<b>% Huminas ± 0,02</b>	86,16	86,78	86,53	86,5 ± 0,3	89,44	89,69	90,05	89,7 ± 0,4
<b>% AH</b>	0,6179 ± 0,0005	0,5150 ± 0,0006	0,4306 ± 0,0007	0,5 ± 0,1	5,9607 ± 0,0003	5,4627 ± 0,0003	4,6250 ± 0,0003	5,4 ± 0,7
<b>% AF</b>	0,184 ± 0,001	0,228 ± 0,001	0,215 ± 0,001	0,2 ± 0,1	0,181 ± 0,001	0,239 ± 0,001	0,227 ± 0,001	0,22 ± 0,03

Nota: AH: ácidos húmicos, AF: ácidos fúlvicos

El % C.T. mostrado en la tabla 6 es el correspondiente al residuo obtenido de la extracción de las SH. Este % C.T. permitió establecer el % Huminas.

La fracción correspondiente a las huminas se encuentra en una proporción mayor al 50%, tal y como señalan Ruiz et al. (2000), debido a que se encuentra constituida por ácidos húmicos tan íntimamente unidos a la parte mineral del suelo que no puede separarse de ella, así como también por sustancias húmicas de alta condensación y un contenido de carbono mayor al 60% <sup>[58]</sup>.

El contenido de ácidos húmicos en la muestra FU-CAR fue mayor que el contenido de ácidos húmicos en la muestra FUP-1, lo que, según Martínez 1992 <sup>[57]</sup>, es un indicativo del grado de meteorización de la muestra FU-CAR.

Los resultados, para la determinación del contenido de ácidos húmicos, encontrados en la bibliografía, señalan rangos muy diversos, que pueden ir desde 1% hasta 79%. Para el caso de Rivero et al. (2004) <sup>[59]</sup>, ellos indican que el contenido de ácidos húmicos, en muestras de Leonardita en Venezuela, se encuentra alrededor del 15%. Por otro lado, Ghabbour et al. (2012) <sup>[47]</sup> encontraron que cuatro muestras de

lignito, provenientes de Texas, USA, contenían entre un 2% y un 41% de ácidos húmicos, resultados que son similares a los observados en la tabla 6. En Aragon, España, para las muestras de leonardita estudiadas por Olivella et al. (2002) <sup>[41]</sup>, se obtuvo 79% de ácidos húmicos. Finalmente, Asing et al. (2009) <sup>[46]</sup>, encontraron que en las muestras de carbones sub-bituminosos de diferentes procedencias, el contenido de ácidos húmicos varía entre 1% y 11% y una muestra de leonardita comercial puede tener un contenido de carbono que va desde 32% a 58%.

Es importante señalar que la composición de las sustancias húmicas varía dependiendo del origen de la materia orgánica y del método de extracción, entre otros. Debido a que la metodología de extracción fue la misma para las muestras, es probable que haya un aporte de materia orgánica ligeramente distinto en las muestras estudiadas.

Por otro lado, se observa que, para ambas muestras, el contenido de ácidos fúlvicos representa una fracción minoritaria de las sustancias húmicas, lo que coincide con el trabajo realizado por Martínez 1992 <sup>[57]</sup> en muestras de lignito y turbas.

### **7.3. Análisis químico de los ácidos húmicos y fúlvicos**

Con la finalidad de caracterizar las sustancias húmicas extraídas de las muestras identificadas como FUP-1 y FU-CAR, se realizaron los análisis químicos descritos en la sección 6.2.3.

#### **7.3.1. Análisis elemental**

Utilizando el equipo LECO C-144, se determinó el contenido de carbono total en las muestras de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos (Tabla 7).

**Tabla 7.** Contenido de Carbono total en las muestras de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos

	FUP-1				FU-CAR			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
% C.T. en AH $\pm 0,01$	64,88	67,58	71,07	68 $\pm$ 3	59,95	59,15	61,20	60 $\pm$ 1
%C.T. en AF $\pm 0,01$	-	-	-	-	29,38	-	32,46	31 $\pm$ 2

Los datos correspondientes al contenido de carbono de los ácidos fúlvicos de la muestra FUP-1 no se pudieron determinar debido a la poca cantidad de muestra que se obtuvo luego de la liofilización.

El análisis elemental de carbono aplicado a las sustancias húmicas, demuestra que el contenido de carbono es mayor en los ácidos húmicos que en los ácidos fúlvicos para la muestra FUP-1. Este comportamiento es el observado en el fraccionamiento de las sustancias húmicas expuesto por Ramos et al 2000 <sup>[58]</sup>, donde se indica que el contenido de carbono que presentan los ácidos fúlvicos, por lo general, va de 40 a 50% y el contenido de carbono que presentan los ácidos húmicos, por lo general, abarca un 50 a un 60%, esto debido a que los ácidos húmicos poseen estructuras más polimerizadas y complejas que los ácidos fúlvicos <sup>[60]</sup>.

### 7.3.2. Análisis con FT-IR

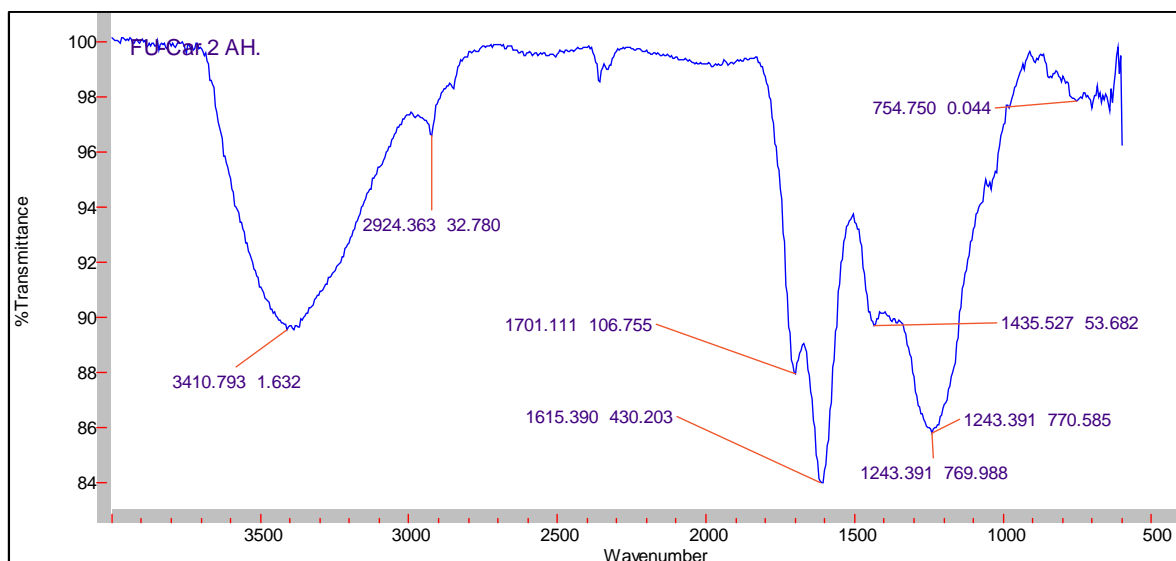
El análisis de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) se realizó con el fin de determinar los grupos funcionales principales que se encuentran presentes en las muestras de ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de las muestras de lignito, ya que los espectros de infrarrojo muestran bandas que son reflejo directo de su estructura molecular y provee información clave a cerca de la naturaleza del humus, de su



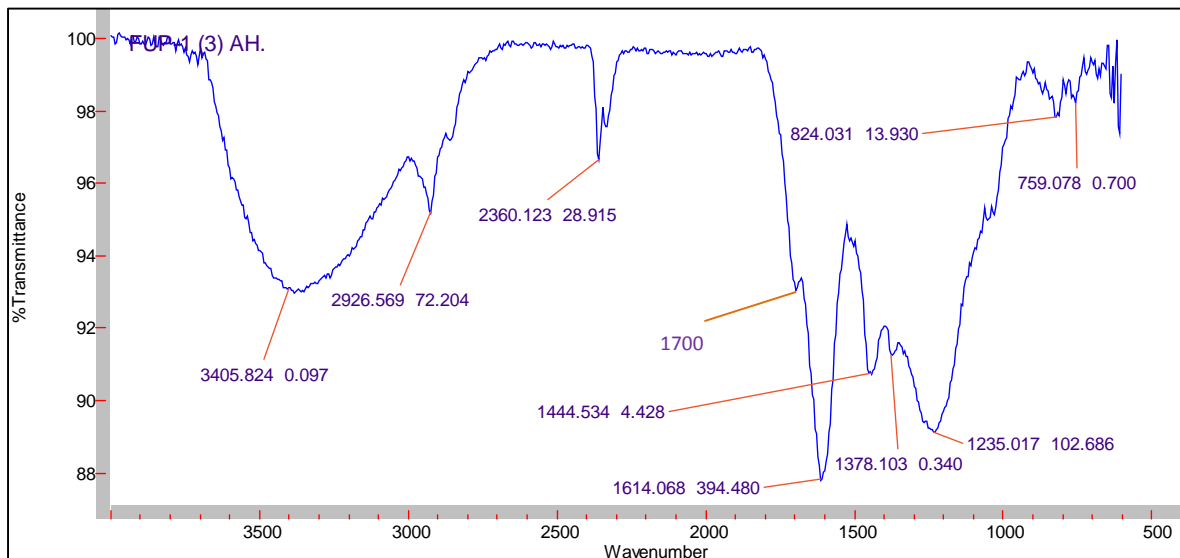
actividad y del acomodo estructural de los grupos funcionales que contienen oxígeno [61].

Al observar los espectros de IR en las figuras 24, 25, 26 y 27, se puede apreciar que, para los ácidos húmicos, tanto de las muestras FUP-1 como de las muestras FU-CAR, hay un incremento en la señal correspondiente a la banda encontrada entre 1240-1235  $\text{cm}^{-1}$ , indicando que la mayor parte del oxígeno, en esta fracción, se encuentra formando parte del núcleo o de la estructura central, en uniones del tipo éster o éter.

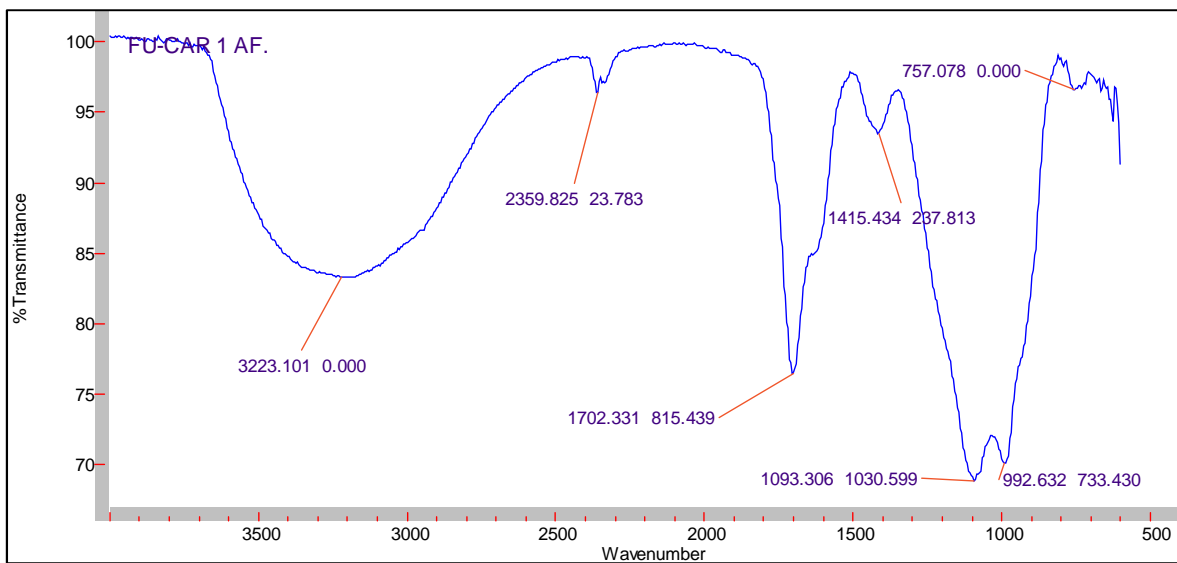
La banda a 1700  $\text{cm}^{-1}$ , para los ácidos húmicos, es mucho más débil que la encontrada para sus respectivos ácidos fúlvicos, debido a que los ácidos fúlvicos poseen un mayor contenido de grupos carboxílicos y fenólicos que los ácidos húmicos. Esta banda tiende a ser más débil al incrementar la intensidad del color de las sustancias húmicas, lo que a su vez indica una disminución de grupos COOH y un incremento del peso molecular (polimerización) de la muestra [61].



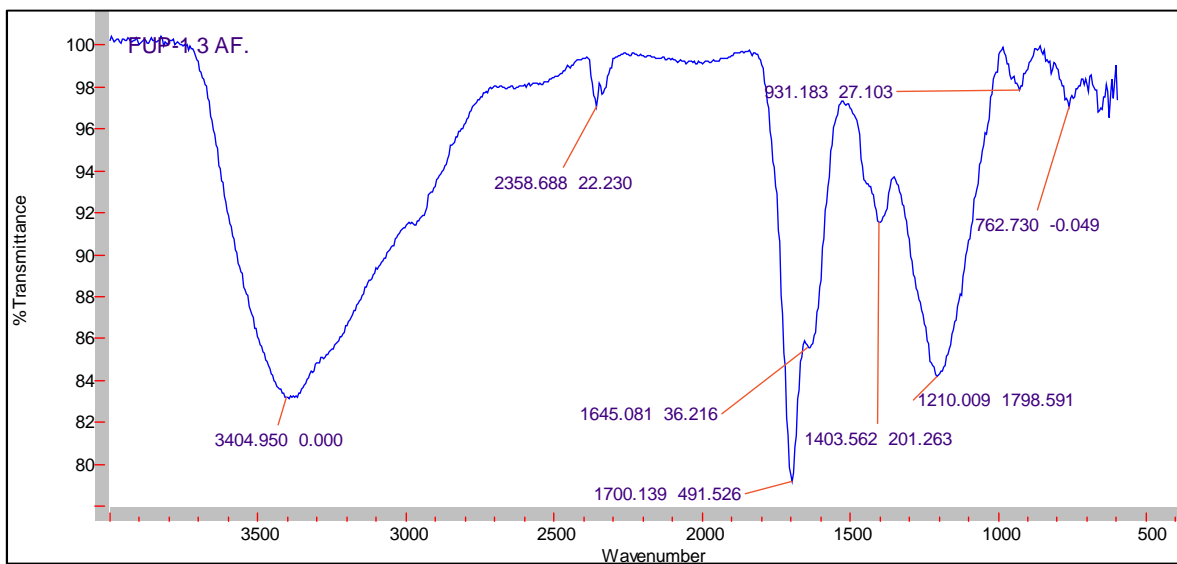
**Figura 24.** Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FU-CAR.



**Figura 25.** Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FUP-1.



**Figura 26.** Espectro de FT-IR para los AF de la muestra FU-CAR.



**Figura 27.** Espectro de FT-IR para los AF de la muestra de FUP-1.

En la tabla 8 se describen las señales presentes en las muestras estudiadas a través de FT-IR.

**Tabla 8.** Señales presentes en los espectros de IR

Muestra	Intensidad	Señal (cm <sup>-1</sup> )	Descripción
FU-CAR AH	Fuerte	3432-3400	Stretching O-H correspondientes de grupos carboxílicos
	Moderado	1700	Stretching C=O cetonas y ácidos carboxílicos
	Fuerte	1650-1600	C=C olefinicos y aromáticos, N-H aminas
	Débil	1435	C=C aromáticos
	Fuerte	1243-1230	Stretching O-H grupos carboxílicos, alcoholes, fenoles, éteres
FUP-1 AH	Moderado	3450-3400	Stretching O-H correspondientes de grupos carboxílicos
	Débil	2924-2900	Stretching C-H alifático
	Fuerte	1613	C=C olefinicos y aromáticos, N-H aminas
	Débil	1450-1400	C-H alifático (CH <sub>3</sub> )
	Fuerte	1235	Stretching O-H grupos carboxílicos, alcoholes, fenoles, éteres
FU-CAR AF	Fuerte	3240-3200	Stretching O-H ácidos carboxílicos
	Fuerte	1700	Stretching C=O cetonas y ácidos carboxílicos
	Fuerte	1100-1000	Stretching C-O alcoholes, C-H alquenos
FUP-1 AF	Fuerte	3400	Stretching O-H correspondientes de grupos carboxílicos
	Fuerte	1700	Stretching C=O cetonas y ácidos carboxílicos
	Débil	1645	C=C olefinicos y aromáticos, N-H aminas
		1450-1400	C-H alifático (CH <sub>3</sub> )
		1210	C-N aminas

Las bandas entre 2900-2924 cm<sup>-1</sup> representan el estiramiento de los C-H alifáticos. El aumento en la señal de esta banda en el espectro de la fracción de AH de la muestra FUP-1 (Figura 25), en comparación con la correspondiente fracción de la muestra FU-CAR (figura 24), es indicativo de que las cadenas de naturaleza alifática,

que mantienen unidos los componentes aromáticos, sufren transformaciones del tipo oxidativo, dando origen a grupos diversos como compuestos con grupos hidroxilos y distintos compuestos del tipo alifáticos <sup>[62] [63] [64]</sup>.

Las bandas ubicadas alrededor de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , pueden reducirse con la meteorización, ya que los grupos del tipo  $\text{-OH}$  fenólicos se transforman fácilmente a quinonas y posteriormente a grupos carboxílicos, mediante el rompimiento de anillos aromáticos <sup>[62] [65]</sup>, lo cual se evidencia en las figuras 24 y 25 donde esta banda disminuye en intensidad para la fracción de AH de la muestra FU-CAR, en comparación con la misma fracción para la muestra FUP-1. De igual manera, se observa un incremento en la intensidad de la banda a  $3400\text{ cm}^{-1}$  para los espectros de las fracciones de AF en comparación con las fracciones de AH, en ambas muestras, debido al mayor contenido de compuestos fenólicos que poseen los AF.

El comportamiento observado en el análisis de FT-IR es el mismo observado por Martínez et al 1992 <sup>[43]</sup>, donde las muestras meteorizadas, en este caso la muestra FU-CAR, cumplen con:

- Un incremento de los grupos carbonilos.
- Un incremento de los grupos fenólicos, grupos O-H o presencia de agua.

Una disminución de las estructuras alifáticas.

### 7.3.3. Análisis con UV-Vis

El índice  $E_{465}/E_{665}$  refleja la pendiente de la curva espectral completa, y se considera que incrementa cuando disminuye el tamaño molecular. El intenso color oscuro de las SH es el resultado de la gran variedad de grupos cromóforos y auxocromos, junto con una alta concentración de radicales libres estables, probablemente grupos semiquinonas <sup>[2]</sup>.

En la tabla 9 se indican los valores correspondientes a los índices  $E_{465}/E_{665}$  obtenidos para las muestras en estudio.

**Tabla 9.** Índices  $E_{465}/E_{665}$

	FUP-1				FU-CAR			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
$E_{465}/E_{665}$ en AH $\pm 0,002$	2,140	2,273	2,385	$2,3 \pm 0,1$	3,576	3,717	3,845	$3,7 \pm 0,1$
$E_{465}/E_{665}$ en AF $\pm 0,002$	4,278	4,100	4,125	$4,2 \pm 0,1$	6,044	6,660	5,712	$6,1 \pm 0,5$

El índice  $E_{465}/E_{665}$  es una relación inversamente proporcional al grado de condensación de la red aromática carbonada de las sustancias húmicas y está determinado por el tamaño de la partícula o peso molecular, pH, concentración de oxígeno, carbono, grupos carboxílicos y acidez total <sup>[55]</sup> <sup>[56]</sup>. La absorción de la luz de los ácidos húmicos y los ácidos fúlvicos, en la región del visible del espectro electromagnético, aumenta con la relación del carbono en el núcleo aromático al carbono de las estructuras alifáticas, con el contenido total de carbono y con el peso molecular <sup>[60]</sup>.

La relación observada establece que el tamaño molecular y grado de condensación de los ácidos húmicos es mayor que para los ácidos fúlvicos, en ambas muestras. Por otro lado, distintos autores establecen que una relación baja está asociada con un alto peso molecular, alto contenido de oxígeno y un alto contenido de carbono, este último corroborado con los resultados obtenidos en el análisis elemental de los ácidos húmicos (tabla 7). <sup>[66]</sup>.

En trabajos realizados por Chen et al 1977 <sup>[55]</sup>, indican que los ácidos húmicos usualmente presentan índices menores a 5,0; mientras que para los ácidos fúlvicos generalmente es de 6,0 a 8,5. Los resultados obtenidos para los ácidos húmicos

cumplen esta premisa, sin embargo, los resultados obtenidos para los ácidos fúlvicos de las muestras FUP-1 se desvían un poco del rango encontrado por Chen para el índice  $E_{465}/E_{665}$ . Es importante destacar que la relación en estudio es totalmente empírica ya que otras variables influyen en el valor obtenido del cociente, como el pH, grado de condensación de la estructura carbonada, concentración de radicales libres, contenido de O,  $\text{CO}_2\text{H}$  y acidez total, por lo que los valores obtenidos probablemente miden la sumatoria de todas estas variables en las distintas muestras <sup>[66]</sup>.

El índice  $E_{465}/E_{665}$  es mayor para la muestra FU-CAR, en ambas fracciones, que para la muestra FUP-1 en sus dos fracciones. Esto se puede deber a que con la meteorización se genera un rompimiento y la oxidación de estructuras altamente condensadas. Este rompimiento produce fragmentos moleculares de menor peso molecular y ricos en grupos funcionales oxigenados <sup>[55]</sup>.

#### 7.3.4. Determinación de acidez total y grupos carboxílicos

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para acidez total y grupo carboxílico.

**Tabla 10.** Resultados de acidez total y grupos carboxílicos.

Muestra	Acidez total (mmol H <sup>+</sup> /g S.H.)		Grupo carboxílico (mmol H <sup>+</sup> /g S.H.)		Fenoles (mmol H <sup>+</sup> /g S.H.)	
	AH	AF	AH	AF	AH	AF
<b>FU-CAR 1</b>	7,3 ± 0,1	27,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1	10,6 ± 0,1	5,3 ± 0,2	16,5 ± 0,3
<b>FU-CAR 2</b>	8,5 ± 0,1	29,8 ± 0,1	1,5 ± 0,1	10,4 ± 0,1	7,0 ± 0,2	19,4 ± 0,3
<b>FU-CAR 3</b>	7,5 ± 0,1	27,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1	11,1 ± 0,1	5,1 ± 0,2	16,1 ± 0,3
<b>Promedio</b>	7,8 ± 0,6	28 ± 2	2,0 ± 0,5	10,7 ± 0,3	6 ± 1	17 ± 2
<b>FUP-1 1</b>	5,1 ± 0,1	-	1,2 ± 0,1	-	3,9 ± 0,2	-
<b>FUP-1 2</b>	6,6 ± 0,1	52,4 ± 0,5	1,1 ± 0,1	25 ± 1	5,5 ± 0,2	27 ± 2
<b>FUP-1 3</b>	5,4 ± 0,1	-	1,9 ± 0,1	-	3,4 ± 0,3	-
<b>Promedio</b>	5,7 ± 0,8	52,4 ± 0,5	1,4 ± 0,5	25 ± 1	4 ± 1	27 ± 2

Los datos de ácidos fúlvicos que no se presentan en la tabla, se debe a que no se contó con suficiente muestra para su análisis.

En los resultados mostrados en la tabla 10, se observa un aumento en la acidez, tanto total como carboxílica y fenólica, para las muestras FU-CAR A.H., con respecto a las muestras FUP-1 A.H., lo que supone que los grupos acídicos como COOH y OH podrían estar aumentando por efecto de la meteorización.

Por otro lado, los ácidos fúlvicos, de ambas muestras, presentan una mayor acidez total que los ácidos húmicos, debido a una mayor presencia de grupos carboxílicos e hidroxilo <sup>[67]</sup> <sup>[68]</sup>. Además, en los ácidos húmicos la mayor parte del oxígeno se encuentra formando parte del núcleo o estructura central, en uniones del tipo éter o éster, mientras que para los ácidos fúlvicos se encuentra como COOH, OH o C=O <sup>[58]</sup>.

Por otro lado se observa que la acidez fenólica en la fracción de AF para la muestra FU-CAR es menor que la encontrada en la misma fracción de la muestra FUP-1, esto puede indicar que, con la meteorización, hay un posible proceso de lixiviación de los compuestos fenólicos.

### **7.3.5. Identificación y cuantificación de fenoles por HPLC**

Para la identificación de los compuestos fenólicos presentes en los extractos de los ácidos húmicos hidrolizados y los ácidos fúlvicos, se realizó la inyección de tres patrones, bajo las condiciones descritas en el ítem 6.2.3.4. Los patrones inyectados, sus concentraciones y tiempos de retención ( $t_R$ ), se describen en la tabla 11.

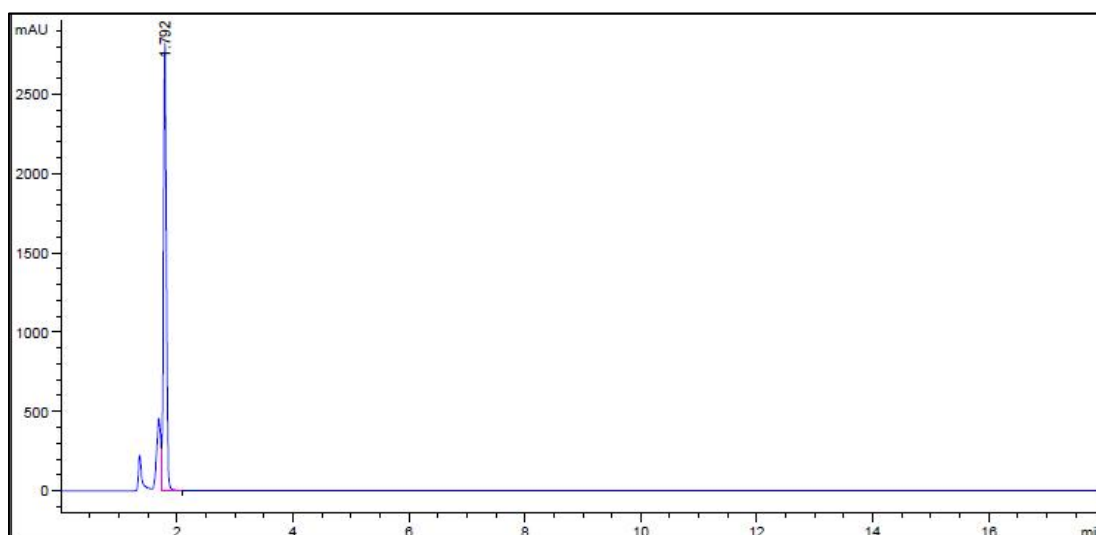


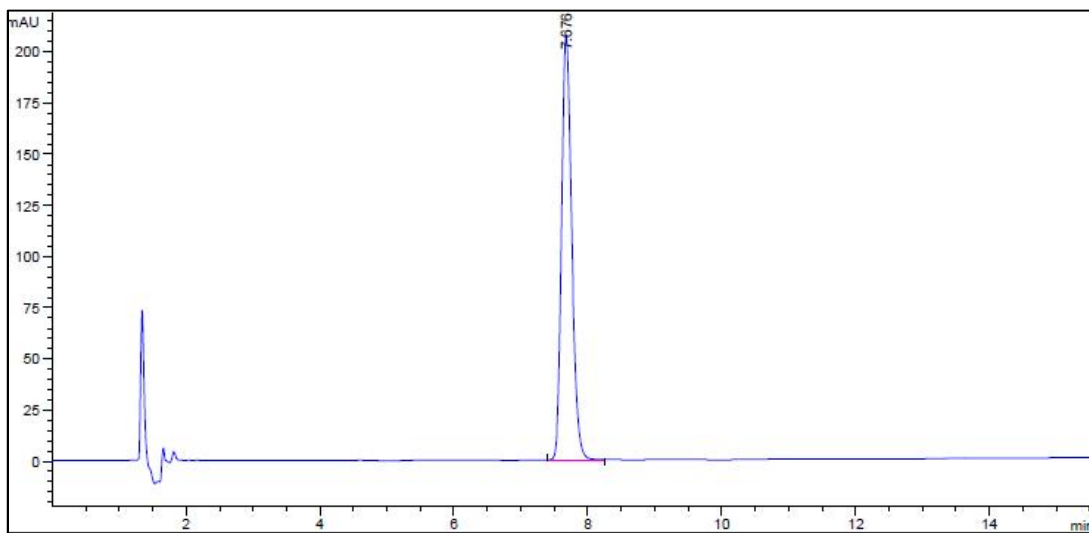
**Tabla 11.** Análisis cualitativo de patrones de fenoles por HPLC

Patrón	Concentración (mg/L)	$t_R$ (min)
Ácido Gálico	$876,000 \pm 0,003$	1,792
Vainillina	$652,000 \pm 0,004$	7,676
Ácido Salicílico	$728,000 \pm 0,004$	17,443

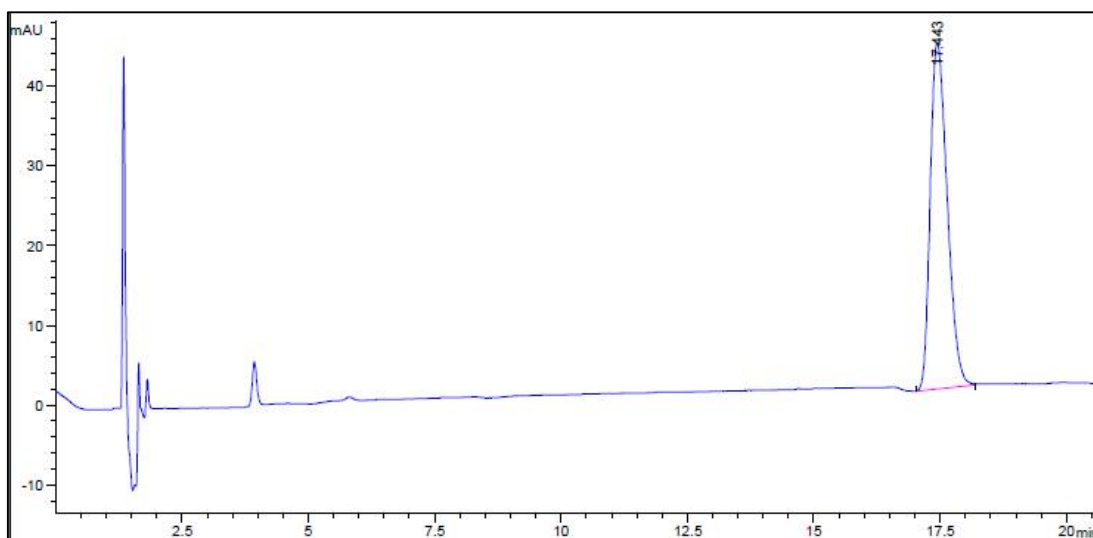
Nota:  $t_R$ : tiempo de retención

Los cromatogramas obtenidos durante la inyección de los patrones mencionados en la tabla 11, se muestran en las figuras 28, 29, 30.

**Figura 28.** Cromatograma del patrón de Ácido Gálico

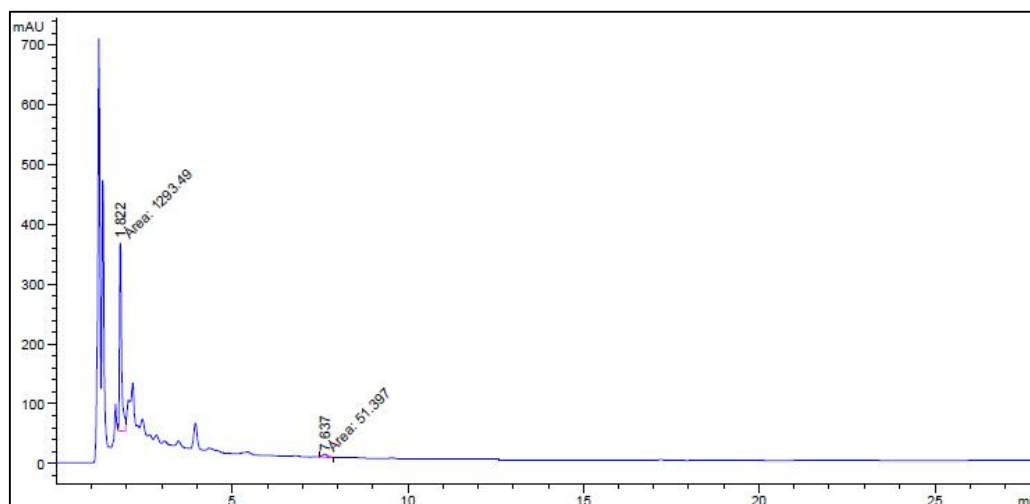


**Figura 29.** Cromatograma del patrón de Vainillina

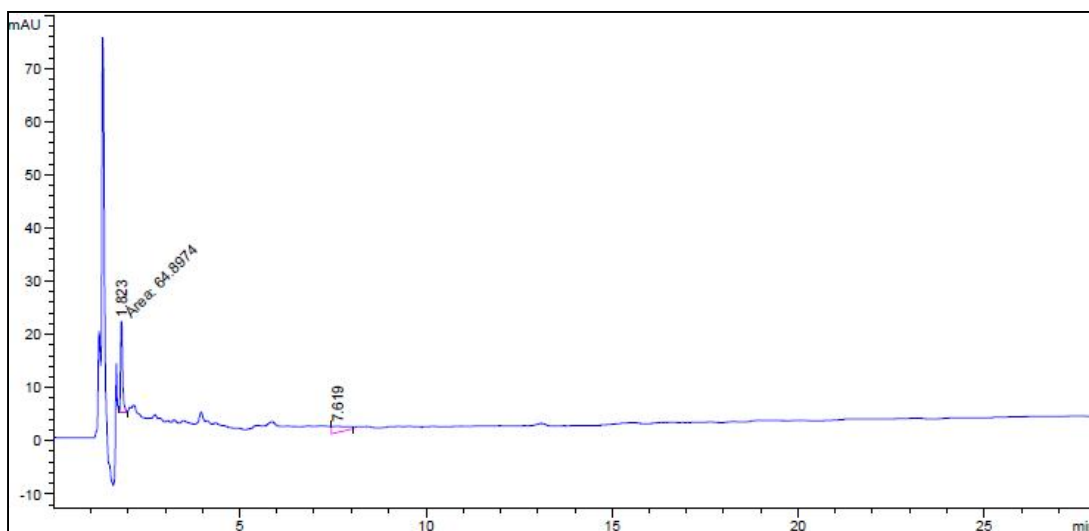


**Figura 30.** Cromatograma del patrón de Ácido Salicílico

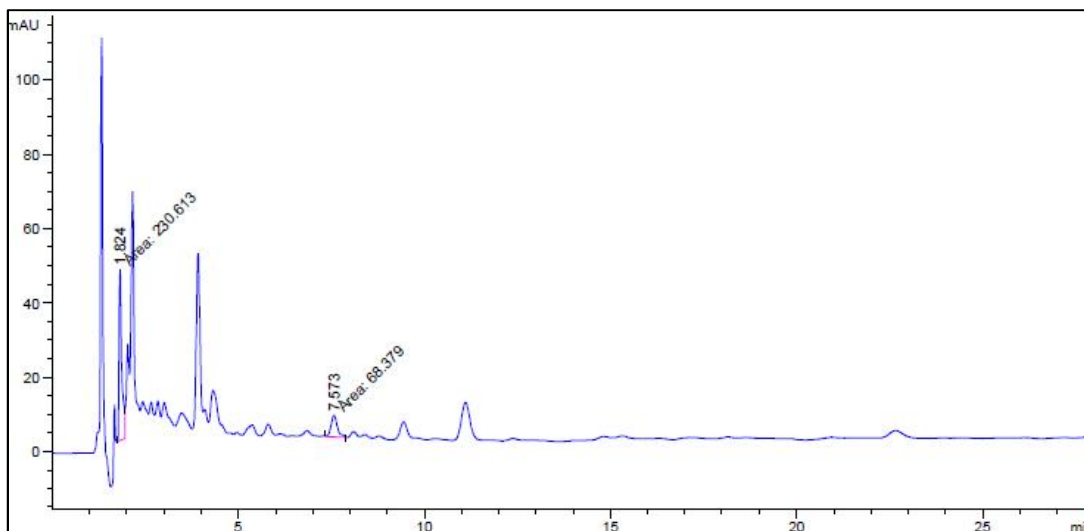
Una vez identificados los tiempos de retención de los patrones, se procedió a inyectar los extractos obtenidos de los ácidos húmicos y de los ácidos fúlvicos, bajo las mismas condiciones en las cuales fueron inyectados los patrones, obteniendo los cromatogramas mostrados en las figuras 31, 32, 33 y 34.



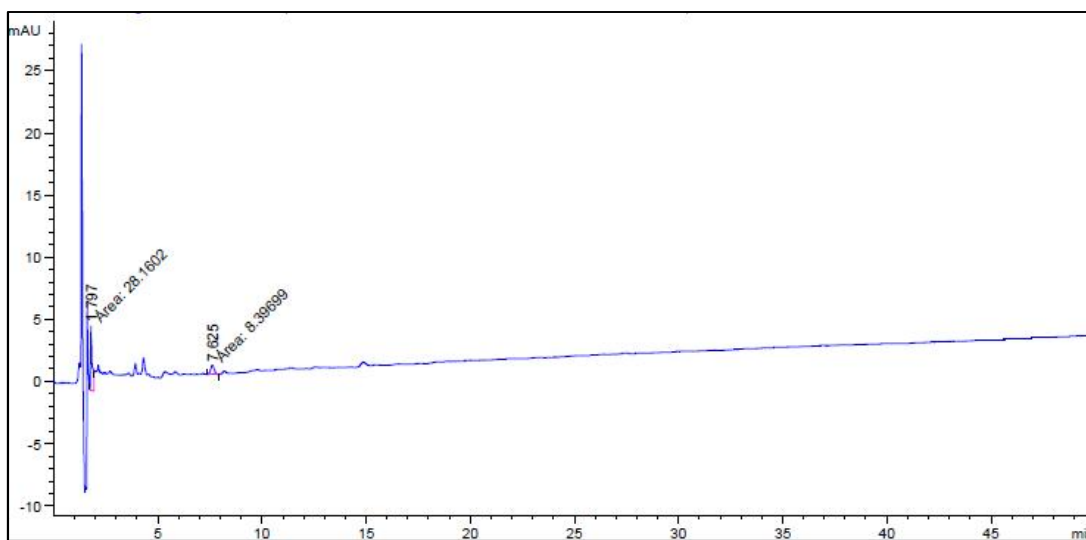
**Figura 31.** Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FU-CAR



**Figura 32.** Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FU-CAR



**Figura 33.** Cromatograma para la fracción AF de la muestra FUP-1



**Figura 34.** Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FUP-1

En los cromatogramas, tanto de las muestras FU-CAR como de las muestras FUP-1, se pudieron identificar las señales para los picos correspondientes al ácido

gálico y la vainillina. En ninguna de las muestras se observó el pico correspondiente al ácido salicílico, bien porque no se encontraba presente o porque su concentración en la muestra fue menor al límite de detección bajo estas condiciones.

Es importante resaltar que, en ambas muestras, se observaron señales definidas de picos correspondientes a compuestos fenólicos, los cuales no pudieron ser identificados en este trabajo debido a la ausencia de patrones adecuados.

Una vez identificados los picos correspondientes a los patrones mostrados en la tabla 11, se procedió a realizar la cuantificación de los mismos en las muestras de los extractos de ácidos húmicos y fúlvicos, a través de una curva de calibración externa. Una vez obtenidas las curvas de calibración, se procedió a la cuantificación de los compuestos fenólicos en las muestras, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 12.

**Tabla 12.** Resultados de la cuantificación de los compuestos fenólicos en las muestras de lignito

Muestras	Ácido Gálico		Vainillina		Ácido Salicílico
	mg/L	mg fenol/Kg S.H	mg/L	mg fenol/Kg S.H	
<b>FU-CAR AH 1</b>	2,96 ± 0,07	137,90 ± 0,07	9,33 ± 0,02	434,86 ± 0,02	N.D
<b>FU-CAR AH 2</b>	2,27 ± 0,09	110,92 ± 0,09	1,5 ± 0,1	71,5 ± 0,1	N.D
<b>FU-CAR AH 3</b>	2,25 ± 0,09	104,52 ± 0,09	5,00 ± 0,04	232,23 ± 0,04	N.D
<b>Promedio</b>	2,5 ± 0,4	118 ± 18	5 ± 4	246 ± 182	0
<b>FU-CAR AF 1</b>	69,589 ± 0,005	5847,854 ± 0,005	15,94 ± 0,01	1339,31 ± 0,01	N.D
<b>FU-CAR AF 2</b>	240,361 ± 0,003	21850,982 ± 0,003	28,16 ± 0,01	2559,88 ± 0,01	N.D
<b>FU-CAR AF 3</b>	76,238 ± 0,005	17017,400 ± 0,007	21,32 ± 0,01	4758,73 ± 0,01	N.D
<b>Promedio</b>	129 ± 97	14905 ± 8208	23 ± 6	2886 ± 1733	0
<b>FUP-1 AH 1</b>	1,0 ± 0,2	52,2 ± 0,2	2,66 ± 0,08	143,37 ± 0,08	N.D
<b>FUP-1 AH 2</b>	1,3 ± 0,2	56,5 ± 0,2	5,26 ± 0,04	229,96 ± 0,04	N.D
<b>FUP-1 AH 3</b>	1,4 ± 0,1	63,9 ± 0,1	7,62 ± 0,03	351,18 ± 0,03	N.D
<b>Promedio</b>	1,2 ± 0,2	57 ± 6	5 ± 2	242 ± 104	0
<b>FUP-1 AF 1</b>	11,95 ± 0,02	733,81 ± 0,02	21,18 ± 0,01	1301,13 ± 0,01	N.D
<b>FUP-1 AF 2</b>	13,45 ± 0,02	690,51 ± 0,02	19,89 ± 0,01	1021,11 ± 0,01	N.D
<b>FUP-1 AF 3</b>	5,86 ± 0,04	296,99 ± 0,04	17,92 ± 0,01	908,92 ± 0,01	N.D
<b>Promedio</b>	10 ± 4	574 ± 241	20 ± 2	1077 ± 102	0

Se observó una gran diferencia en las concentraciones de los compuestos fenólicos, entre las réplicas realizadas de cada una de las muestras. Esto se puede deber a todo el proceso que se le aplicó a cada una de las muestras, desde la extracción de las sustancias húmicas hasta la extracción de los compuestos fenólicos. Las concentraciones van a depender de la cantidad de muestra tomada, la homogeneización de las muestras al momento de realizar las extracciones y la efectividad de las extracciones de los compuestos fenólicos.

Como se muestra en la tabla 13, el contenido de compuestos fenólicos es mayor en la fracción de ácidos fúlvicos que en la fracción hidrolizada de ácidos húmicos, resultados que concuerdan con los resultados obtenidos en la literatura <sup>[43]</sup>.

Los ácidos fúlvicos, en comparación con los ácidos húmicos, muestran un grado de condensación de núcleos aromáticos menor, por lo que contienen estructuras aromáticas más simples. La composición cualitativa y cuantitativa de los compuestos fenólicos depende del tipo y del grado de descomposición de la materia orgánica <sup>[42][43]</sup>.

La lignina unida a las proteínas de origen microbiano representa la fuente principal de las sustancias húmicas. Se ha demostrado que la lignina y sus productos de degradación y los fenoles sintetizados por los microorganismos son las fuentes más importantes de los compuestos fenólicos que participan en la formación de las sustancias húmicas <sup>[55]</sup>.

El grado de transformación de la lignina puede ser seguido mediante el análisis realizado a los compuestos fenólicos en las fracciones ácidas del humus. Un indicador del alto grado de descomposición de la lignina puede ser el contenido de compuestos vanílicos, cinamílicos y siríngicos, en este caso, se observa en la tabla 13, que las muestras FU-CAR tienen un contenido ligeramente mayor de vainillina que las muestras FUP-1, lo que indica que hay un grado mayor de descomposición de la lignina en las muestras FU-CAR, sin embargo, este resultado no es concluyente ya que es necesario estudiar el resto de los compuestos fenólicos que pudieran indicar dicha

descomposición <sup>[42]</sup> <sup>[69]</sup>. La vainillina es un compuesto característico de la suberina, por lo que el alto contenido de vainillina en las sustancias húmicas estudiadas, puede indicar que la presencia de vegetación gimnosperma <sup>[72]</sup>.

El ácido gálico es formado por la hidroxilación del ácido p-hidroxibenzóico, por lo que el mayor contenido de éste en las muestras FU-CAR indica un mayor grado de meteorización y descomposición en comparación con las muestras FUP-1 <sup>[55]</sup>.

En la literatura se reporta que el ácido gálico y la vainillina tienen solubilidades relativamente bajas en agua (1g/100mL a 20°C para ambos compuestos), igualmente, se encuentra reportado que ambos compuestos son clasificados con una nocividad leve, sin embargo, su lixiviación al medio ambiente puede presentar algunos efectos secundarios <sup>[70]</sup> <sup>[71]</sup>.



## 8. CONCLUSIONES

- ❖ Se evaluó el rango de madurez de las dos muestras de lignito a través de la determinación del %H, %Cenizas, %S, %M.V, %CT y %Cfijo, obteniendo que la muestra FUP-1 puede ser clasificada, según la norma ASTM-D-388-777, como un carbón que va de Sub-Bituminoso a Lignítico, y la muestra FU-CAR, al ser un material proveniente del mismo manto de carbón podría ser clasificado como una leonardita producto la alteración por meteorización del material lignítico caracterizado.
- ❖ Se evaluó el rango de oxidación de ambas muestras de carbón, por extracción alcalina, obteniendo que el valor de  $T_{17}$  para la muestra FU-CAR fue menor a 80, al igual que para la muestra FUP-1, lo que indica que ambas muestras se encuentran altamente oxidadas.
- ❖ Se extrajeron y cuantificaron las sustancias húmicas obtenidas de las dos muestras de lignito estudiado, encontrando un incremento en el contenido de ácidos húmicos en la muestra FU-CAR, con respecto a la muestra FUP-1, debido al grado de meteorización que presenta la primera.
- ❖ Se caracterizaron los ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de las muestras de lignitos, mediante la determinación del %CT, el análisis de FTIR, UV-Vis, acidez total y grupos carboxílicos.
  - El contenido de carbono total para las dos muestras de carbono estudiadas demuestra que el contenido de carbono total es mayor en los ácidos húmicos que en los ácidos fúlvicos, debido al alto grado de polimerización y la complejidad de la estructura que posee el primero.
  - En el análisis de FTIR, se encontró una disminución de la banda a  $1700\text{ cm}^{-1}$  para los AH, en comparación con los AF, debido a un menor contenido de compuestos carboxílicos y fenólicos en los AH. Igualmente,

se observó un aumento de las bandas a  $1240\text{ cm}^{-1}$  para las muestras FU-CAR, indicativo de un mayor contenido de compuestos del tipo éster y éter. Las muestras FUP-1 muestran señales a  $2900\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica presencia de compuestos alifáticos, a diferencia de las muestras FU-CAR, que no presentan estas bandas. Las bandas a  $3400\text{ cm}^{-1}$  se reducen en las muestras FU-CAR, debido al grado de meteorización de la muestra, ya que se pueden formar compuestos del tipo quinona.

- En el análisis de UV-Vis, se observó un mayor índice  $E_{465}/E_{665}$  para los AF que para los AH, en ambas muestras, debido a que el grado de condensación de los AH es mayor que para los AF. A su vez, las muestras FU-CAR mostraron un índice  $E_{465}/E_{665}$  mayor que el observado para las muestras FUP-1 debido al rompimiento de fragmentos moleculares, que genera moléculas de menor peso molecular y mayor contenido de oxígeno.
  - En la determinación de acidez total, grupo carboxílico y fenoles, se observó un aumento en la acidez, tanto total como carboxílica y fenólica, para las muestras FU-CAR A.H., con respecto a la muestra FUP-1, que supone que los grupos ácidos como COOH y OH aumentan debido a la meteorización. Los ácidos fúlvicos, de ambas muestras, presentan una mayor acidez total que los ácidos húmicos, debido a una mayor presencia de grupos carboxílicos e hidroxilo.
- ❖ Se identificó y cuantificó el ácido gálico, ácido salicílico y la vainillina en los ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de las muestras de lignito, a través de la técnica de HPLC, obteniendo que la vainillina se encuentra en mayor cantidad que el ácido gálico, para ambas muestras, indicando la presencia de suberina. El mayor contenido de ácido gálico en la muestra FU-CAR, en comparación con la muestra FUP-1, indica un mayor grado de meteorización, debido a la hidroxilación del ácido p-hidroxibenzoico.

- ❖ La fracción correspondiente a los AH es ideal para ser utilizada como fertilizante, ya que se encuentra en mayor proporción en los lignitos y leonarditas, además de tener un contenido de compuestos fenólicos mucho menor que el encontrado para la fracción de AF.

## 9. RECOMENDACIONES

- 1- Se recomienda realizar el análisis de HPLC de las muestras estudiadas, contando con una gama más amplia de patrones para obtener un mejor análisis tanto cualitativo como cuantitativo de los compuestos fenólicos presentes en dichas muestras.
- 2- Se recomienda el uso de algún tipo de patrón durante la fase de extracción de los compuestos fenólicos en los ácidos húmicos y fúlvicos, para realizar un seguimiento del proceso y obtener un porcentaje de recuperación del mismo.
- 3- Se recomienda realizar el análisis de las muestras estudiadas tomando una mayor cantidad de estas en la fase inicial de extracción y posteriormente, tomando una mayor cantidad de las sustancias húmicas obtenidas para la extracción de los compuestos fenólicos y de esta forma confirmar el hecho de que algunos compuestos fenólicos no se encuentran presentes en las muestras.
- 4- Se recomienda realizar el estudio de lixiviación de los compuestos encontrados en las muestras estudiadas.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Humic Tech (2005). *El secreto de los suelos fértiles*. Biotecnología para suelos y plantas. Alemania.
- [2] Almendros, G. (2008). *Revisión analítica de sustancias húmicas en suelos y compost*. II CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE ECO-BIOLOGÍA DEL SUELO Y EL COMPOST. España. 239-253 pp.
- [3] Elizarrarás, E; Serratos, J; López, E; Román, L. (2009) *La aplicación de ácidos húmicos sobre características productivas de Clitoria ternatea L en la región centro-occidente de México*. Avances en Investigación Agropecuaria. 13(3): 3-10 pp.
- [4] Fraume, N. (2007). *Diccionario Ambiental*. ECOE Ediciones. 203-204 pp
- [5] Deska, B; Maciejewska, A; Kwiatkowska, J. (2002). *The effect of fertilization with brown coal on Haplic Luvisol humic acids*. ROSTLINNÁ VÝROBA, 48, (1): 33–39 pp.
- [6] Závodská, L; Lesný, J (2011). *Recent development in lignite investigation*. 5-10 pp.
- [7] Mayhew, L (2004). *Humic Substances in Biological Agriculture*. ACRES, Vol 34.
- [8] PDVSA, INTEVEP (1997). *Museo Geológico Virtual de Venezuela, Módulo: Minerales de Venezuela*. [En línea]. <[www.pdvsa.com/lexico](http://www.pdvsa.com/lexico)>
- [9] Harbone, J. (1982). *Introduction to Ecological Biochemistry*. Academic Press Inc. New York and London.
- [10] Thompson, A. (1985). *The Chemistry of Allelopathy*. ACS Symposium Series, 286.
- [11] Rhodes, M. (1985). *The physiological significance of plant phenolic compounds*. In "Annual Preceedings of the Phytochemical Society of Europe". Vol 25. 99-117.

- [12] Friend, J. (1979). *In Biochemistry of Plant phenolics (Swain and others)*. Vol 12. 557-588, Plenun Press. New York and London.
- [13] Web Academia. (2013). *Fenoles*. [En línea]. <[www.centrodeartigos.com](http://www.centrodeartigos.com)>
- [14] Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes (2002). *Los fertilizantes y su uso*. Roma. 4° edición. 33 pp
- [15] Correa, L. (2003). *Tipos de Fertilizantes*. [En línea]. Chile <[www.antumapu.cl](http://www.antumapu.cl)>
- [16] International Fertilizer Industry Association (IFA) (2013). [En línea] <[www.fertilizer.org](http://www.fertilizer.org)>
- [17] Asociación Nacional de Fabricantes de Fertilizantes (ANFFE) (2013). [En línea]. España. <[www.anffe.com](http://www.anffe.com)>
- [18] Parrilli, M (2013). [En línea]. <[www.fedeagro.org](http://www.fedeagro.org)>
- [19] Wild, A. (1989). *Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell*. Mundi-Prensa, Madrid. 474-500 pp.
- [20] Perdue, M. (2007). *Natural Organic Matter Research*. [En línea]. <[www.humicsubstances.org](http://www.humicsubstances.org)>
- [21] Stevenson, F. (1982). *Humus Chemistry: génesis, composition, reaction*. Editorial John Wiley and Sons. New York.
- [22] Buffle, J. (1977). *Humic Substances in water and their interaction with minerals ions. Techniques et sciences municipals*. 72, 3-10 pp.
- [23] Núñez, J. (2000) *Fundamentos de Edafología*. EUNED, 2° edición, Costa Rica. 118-120 pp.
- [24] Pedroso, I. (2006). *Ácidos húmicos. Formas de extracción y usos*. Monografía. Universidad de Matanzas.

- [25] Stevenson, F. (1994) *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions*. New York.
- [26] Vásquez, H; Iturra, S. (2010) *Carbón, protagonista del pasado, presente y futuro*. RIL Editores. Chile. 26-28 pp
- [27] *Lignito* (2013). [En línea] Málaga <[www.uciencia.uma.es](http://www.uciencia.uma.es)>.
- [28] Quintero, K. (2005). *Geoquímica orgánica de los carbones del yacimiento Paso Diablo (Formación Marcelina-Paleoceno), estado Zulia. Venezuela*. Trabajo Especial de Grado. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Departamento de Geoquímica. Caracas.
- [29] Tissot, B., Welte, H. (1984) *Petroleum Formation and Occurrence*. Second Edition. Springer-Verlag, 699 pp.
- [30] Hunt, J. (1995) *Petroleum Geochemistry and Geology*. Second Edition. W.H. Freeman and Company. 743 pp.
- [31] American Society for Testing and Materials (ASTMD-388-92). *Standard Classification of Coals by Rank*.
- [32] Ruiz, C., Querol, X., Fernández, J., López, A. (1993). *Caracterización y clasificación de los carbones cretácicos de Teruel. Relaciones entre sus características y el entorno geológico*. Cuadernos de Geología Ibérica. Editorial Complutense. Madrid. No 17. 109-135 pp.
- [33] Fonollá, J; Fernández, M. (2008) *Componentes Orgánicos estructurados en sedimentos carbonosos. Técnicas de estudio*. Actas del XV Simposio sobre la enseñanza de la geología. Madrid. 170-pp.

- [34] Ertel, J., Hedges, J., (1984). *The lignin component of humic substances: Distribution among soils and sedimentary humic, fulvic and base-insoluble fractions*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol 84. 2065-2074 pp
- [35] Sao, Y; Bhatt, V; Swarnkar, P. (2010) *Characterization of humic acids derived from lignite coal and FYM and effect of lignite, humic acid and FYM on Yield of Fodder Maize*. *Inter J Curr Trends Sci Tech*, 1(2): 20–26 pp.
- [36] Morrison, R; Boyd, R. (1998) *Química Orgánica*. Prentice Hall, 5° edición, México. 980-992 pp.
- [37] Skoog, D. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. McGrawHill. Madrid. 786-827 pp.
- [38] Rouessac, F; Rouessac, A. (2003) *Análisis Químico*. McGrawHill, Madrid. 7-57 pp, 169-196 pp.
- [39] Stefanova, M; Velinova, D; Nikolova, R; Marinov, S. (1993). *The composition of lignite humic acids*. *Fuel*, Volume 72, Issue 5, 681-684 pp.
- [40] Franioso, O. (2001). *Spectroscopic study (DRIFT, SERS and H<sup>1</sup>NRM) of peat, leonardite and lignite humic acids*. *Journal Molecular Structure*. Vol 565-566, 481-485 pp.
- [41] Olivella, M; Río, J; Palacio, J; Vairavamorthy, F; Murthy, A; De las Heras, F. (2002) *Characterization of humic acid from leonardite coal: an integrated study of PY-GC-MS, XPS and XANES techniques*. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, España, 63, 59-68.
- [42] Peuravuori, J. (2006) *Aspects of structural features in lignite and lignite humic acids*. *Fuel Processing Technology*. Vol. 87, 829-839 pp.



- [43] Banach, M. (2007). *Content of phenolic compounds in humic acids of forest soil*. Polish J. of Soil Science. Vol XL/1. 67-78 pp.
- [44] Banach, M; Debska, B. (2008) *Content of phenolic compounds in fulvic and humic acids fractions of forest soils*. Polish J. of environ stud. Vol 17, No 4. Pag 463-472 pp.
- [45] Reategui, K. (2008) *Movilización de especies químicas orgánicas e inorgánicas por lixiviación del carbón en distintos estados de madurez*. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Caracas.
- [46] Asing, J; Wong, N.C; Lau, S. (2009) *Optimization of extraction method and characterization of humic acid derived from coals and compost*. J. Trop. Agric. and Fd. Sc. 37(2): 211–223 pp.
- [47] Ghabbour, E; Davies, G; Daggett, J; Worgul, C; Wyant, G; Sayedbagheri, M. (2012) *Measuring the humic acids content of commercial lignites and agricultural top soils in the National Soil Project*. Annals of Environmental Science, Vol 6, 1-12 pp.
- [48] Debnath, A; Ghosh, D; Malakar, H. (2013) *Humus Characterization of Humid Tropical Forest and Tea Garden Soils and Tropical Field Crop Soil of West Bengal, India: Chemical, Potentiometric and Spectroscopic Methods*. Communications in Soil Science and Plant Analysis.
- [49] Caccamo, J. (2011). *Evaluación de la capacidad de adsorción de fenoles por turbas de manglar*. Trabajo de Maestría. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ingeniería, Postgrado en Geoquímica. Caracas.
- [50] Díaz de Gamero, M. L. y O. J. Linares, (1989). *Estratigrafía y paleontología de la Formación Urumaco, del Mioceno tardío de Falcón noroccidental*. VII Congr. Geol. Venez., Mem., 1: 419-439 pp.

- [51] Hambalek, N; Rull, V; De Digiaco, E; Díaz de Gamero, M. (1994), *Evolución paleoecológica y paleoambiental de la secuencia del Neogeno en el surco de Urumaco. Estudio palinológico y litológico*. Bol, Soc. Venez. Geol. 191-2, 7-19pp.
- [52] Díaz de Gamero, M. (1997). *URUMACO, Formación*. [En línea]. <www.pdv.com >
- [53] American Society for Testing and Materials (1993). *ASTM D5263-93. Standard Test Method for Determining the Relative Degree of Oxidation in Bituminous Coal by Alkali Extraction*.
- [54] Bruckert, S. (1987). *Análisis de los complejos órgano-minerales de los suelos*. M. Bonneau y B. Souchier Ediciones. Edafología 2. Masson S,A.
- [55] Chen, Y.; Senesi, N; Schnitzer, M. (1977) *Information provided on humic substances by E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> ratios*. Soil Sci. Soc. Am. J. 41: 352-358 pp.
- [56] Knonova, M. (1966) *Soil Organic Matter*. New York
- [57] Martinez, M. (1992) *Efecto de la meteorización del carbón sobre algunos parámetros geoquímicos*. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Escuela de Química. Caracas.
- [58] Ramos, R. (2000) *Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulantes. Efectos frente al estrés salino*. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante, España.
- [59] Rivero, C; Senesi, N; D'Orazio, V. (2004). *Los ácidos húmicos de leonardita sobre características espectroscópicas de la materia orgánica de un suelo en la Cuenca del Lago de Valencia*. Agronomía Trop. 52(2): 133-144pp.

- [60] Zambrano, A; Contreras, F; Paolini, J; Rivero, C. (2001). *Caracterización espectroscópica de enmiendas orgánicas*. Avances en Investigación Agropecuaria, Vol.15(3), 67-85pp.
- [61] López, L. (2006) *Análisis y caracterización de ácidos fúlvicos y su interacción con algunos metales pesados*. Trabajo de Grado. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. México.
- [62] Calemma, V; Iwanski, P; Rausa, R; Girardi, E. (1994). *Changes in coal structure accompanying the formation of regenerated humic acids during air oxidation*. Fuel, Vol 73(5), 7000pp.
- [63] Kister, J; Guiliano, M; Mille, G; Dou, H. (1988). *Changes in the chemical structure of low rank coal after low temperature oxidation or demineralization by acid treatment*. Fuel, Vol 67(8), 1076pp.
- [64] Ndaji, F; Thomas, K. (1995). *The effects of oxidation on the macromolecular structure of coal*. Fuel, Vol 74(6), 932pp.
- [65] Bhat, S; Agarwal, P. (1996) *The effect of moisture condensation on the spontaneous combustibility of coal*. Fuel, Vol 75(13), 1523pp
- [66] Zamboni, I; Ballesteros, M; Zamudio, A. (2006) *Caracterización de ácidos húmicos y fúlvicos de un Mollisol bajo dos coberturas diferentes*. Revista Colombiana de Química. Volumen 35(2): 191-203 pp.
- [67] Schnitzer, M. (1990) *Aliphatics in soil organic matter in fine-clay fractions*. Soil Science Society of American. 54: 98-105 pp.
- [68] Paneque, G. (1978) *Materia Orgánica del suelo: Química, Morfología y Biología*. Córdoba.

[69] Kögel I.(1986) *Soil. Biol. Biochem.*, 18, 589-594.

[70] Ficha de Seguridad (2013). [En línea] <[www.acofarma.es](http://www.acofarma.es)>.

[71] Winkler. *Ficha de seguridad Química*. 2013

[72] Allar, B. (2005). *A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit Bound lipid, carbohydrate and amino acid distributions*. *Geoderma*, 130, 77-96pp.

## 11. ANEXOS

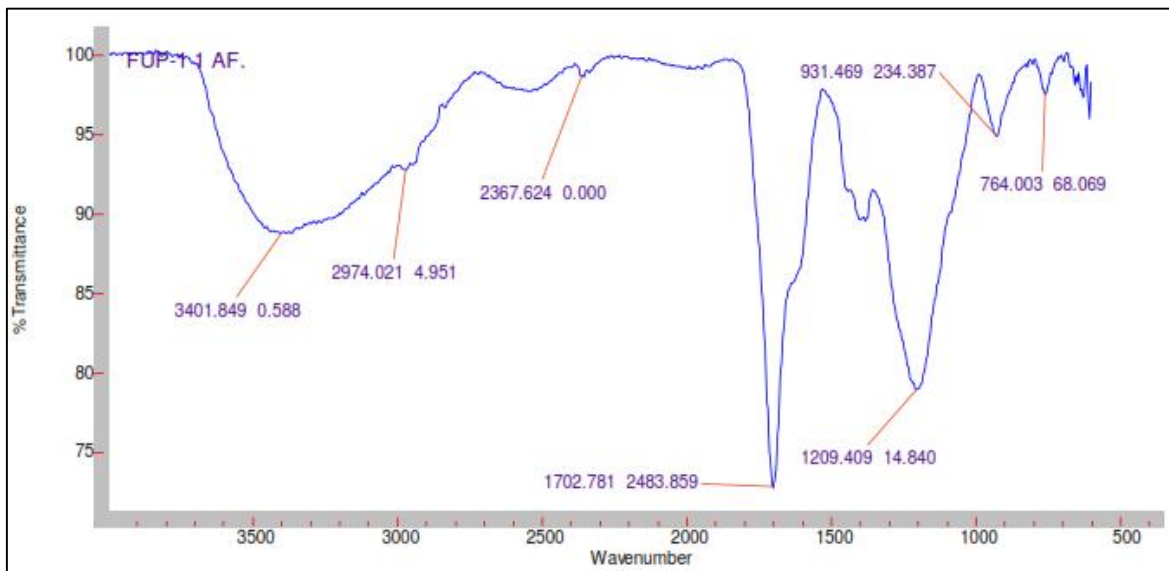
**Anexo 1.** Tabla de datos para el análisis inmediato de las muestras FU-CAR y FUP-1

Muestra	Peso inicial $\pm 0,0001g$		Peso final $\pm 0,0001g$		
	%H y %Cen	%M.V.	%H	%Cenizas	%M.V.
<b>FUP-1 1</b>	1,0024	1,0147	0,9703	0,0445	0,4922
<b>FUP-1 2</b>	1,0000	1,0165	0,9690	0,0441	0,5063
<b>FUP-1 3</b>	1,0077	1,0191	0,9754	0,0441	0,4985
<b>FU-CAR 1</b>	1,0601	1,0132	0,9546	0,0872	0,5021
<b>FU-CAR 2</b>	1,0024	1,0091	0,9020	0,0823	0,4995
<b>FU-CAR 3</b>	1,0374	1,0017	0,9317	0,0846	0,4923

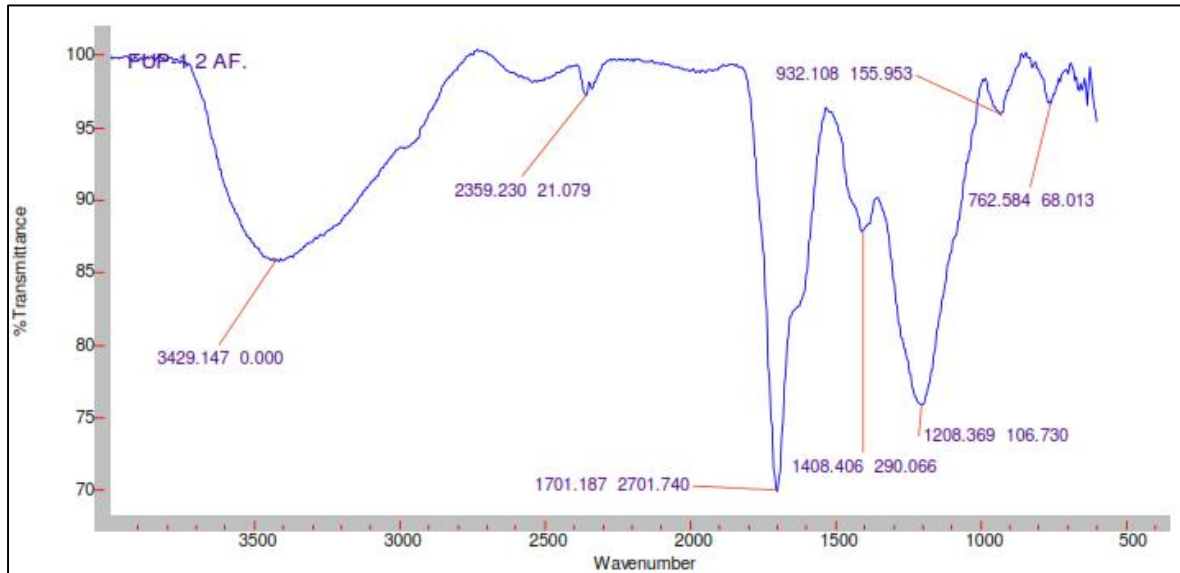
**Anexo 2.** Tabla de datos para la extracción de las sustancias húmicas de las muestras FU-CAR y FUP-1

Muestra	Peso inicial $\pm 0,01g$	Peso $\pm 0,0001g$		
		Huminas	A.H.	A.F.
<b>FUP-1 1</b>	50,51	49,2245	0,3121	0,0927
<b>FUP-1 2</b>	50,14	48,8582	0,2582	0,1144
<b>FUP-1 3</b>	50,58	49,4079	0,2178	0,1085
<b>FU-CAR 1</b>	45,02	35,0277	2,6835	0,0814
<b>FU-CAR 2</b>	40,76	31,8329	2,2266	0,0974
<b>FU-CAR 3</b>	43,41	34,8118	2,0077	0,0986

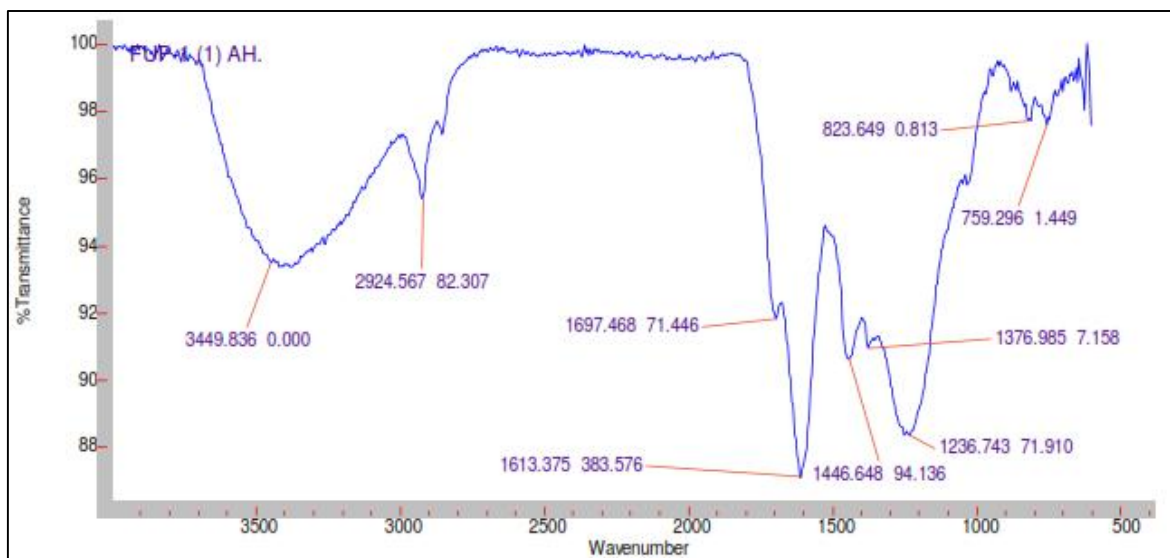
### Anexo 3. Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FUP-1 2



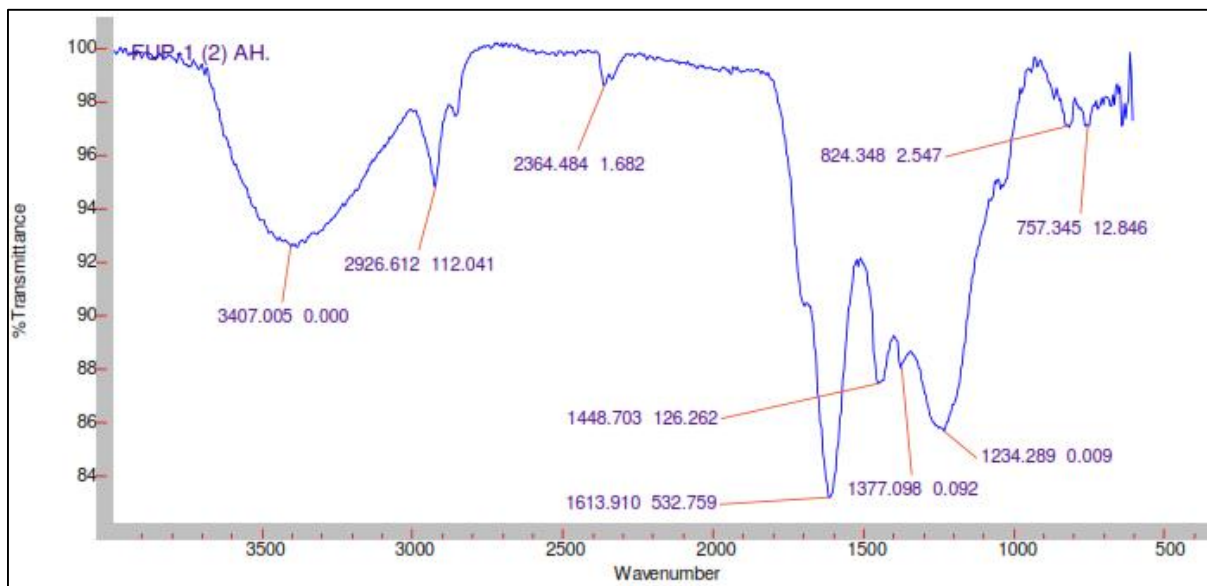
### Anexo 4. Espectro de FT-IR para los AF de la muestra FUP-1 2

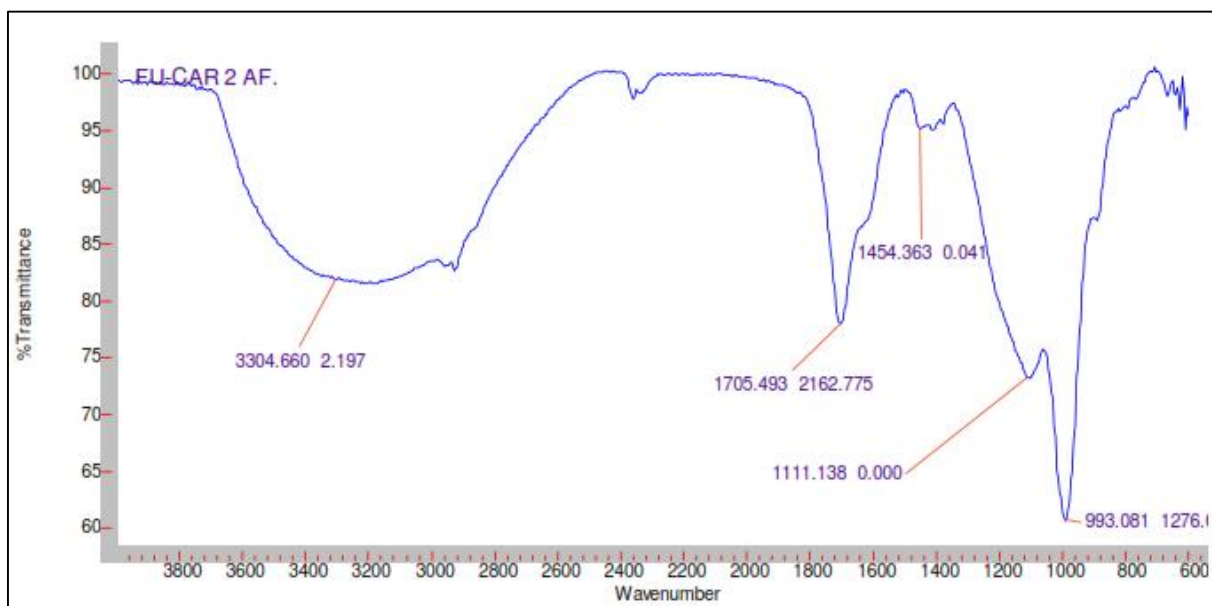
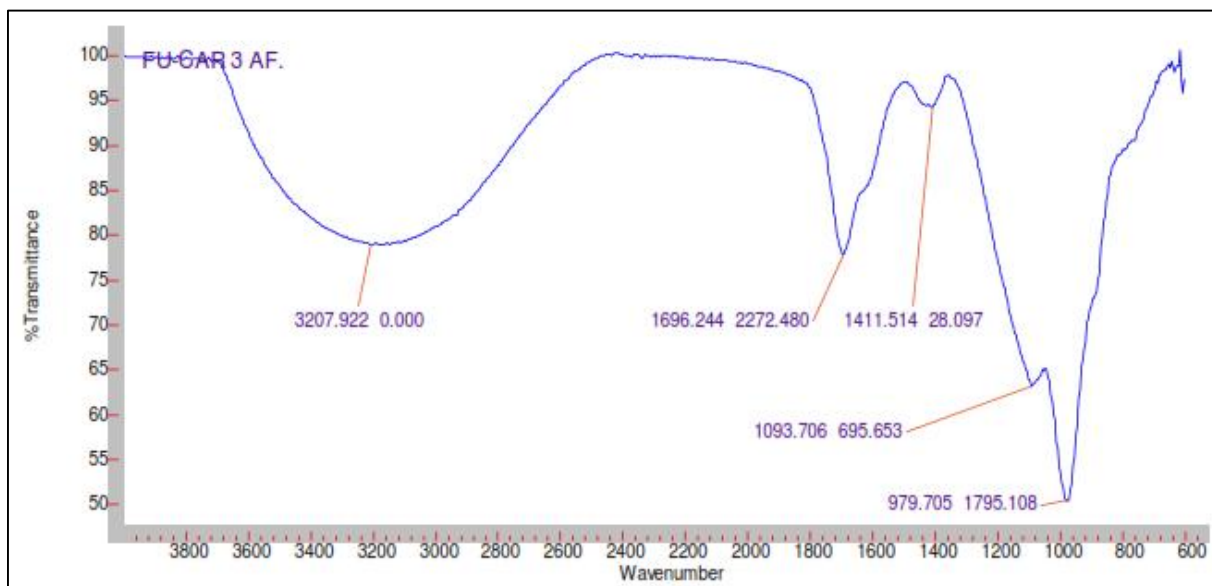


**Anexo 5.** Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FUP-1 1



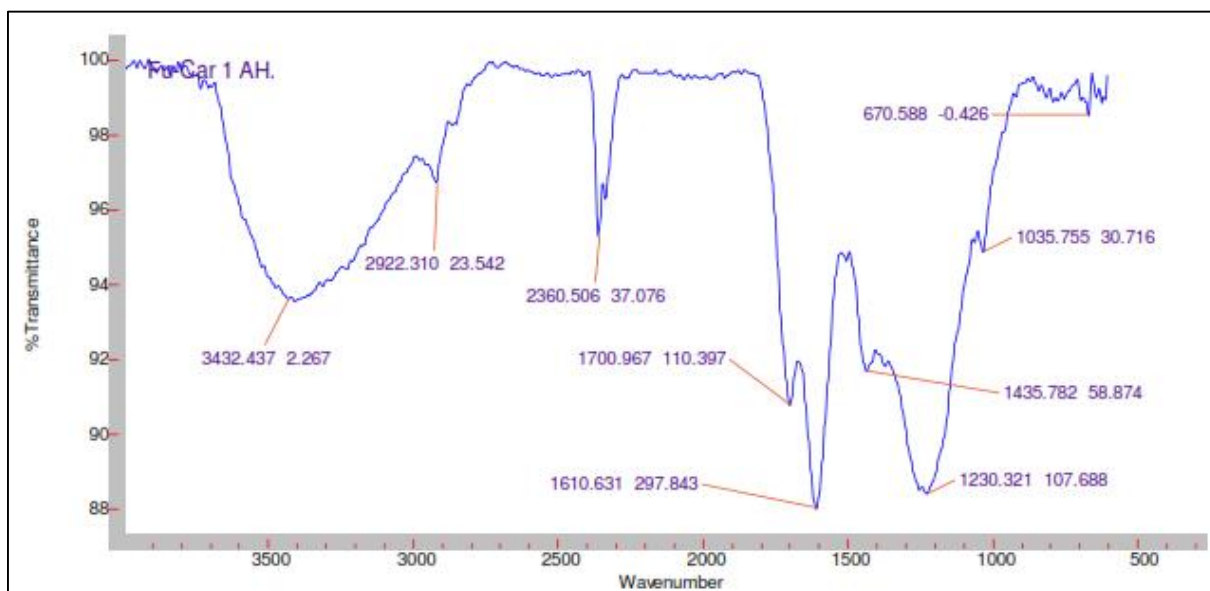
**Anexo 6.** Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FUP-1 2



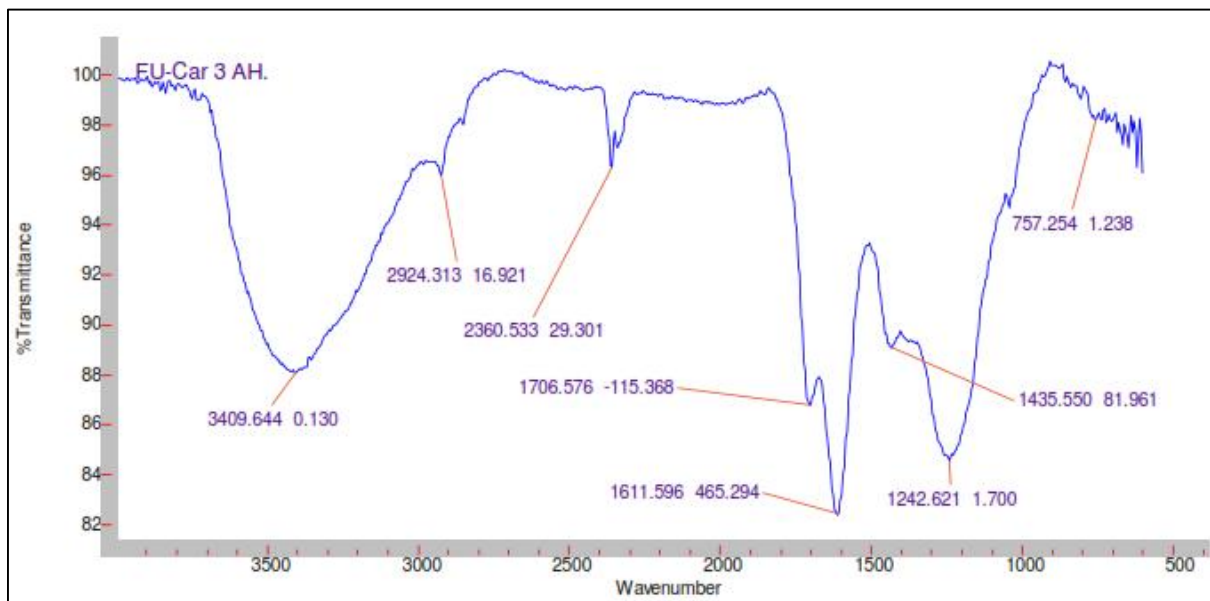
**Anexo 7. Espectro de FT-IR para los AF de la muestra FU-CAR 2****Anexo 8. Espectro de FT-IR para los AF de la muestra FU-CAR 3**



### Anexo 9. Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FU-CAR 1



### Anexo 10. Espectro de FT-IR para los AH de la muestra FU-CAR 3



**Anexo 11.** Tabla de datos del análisis UV-Vis

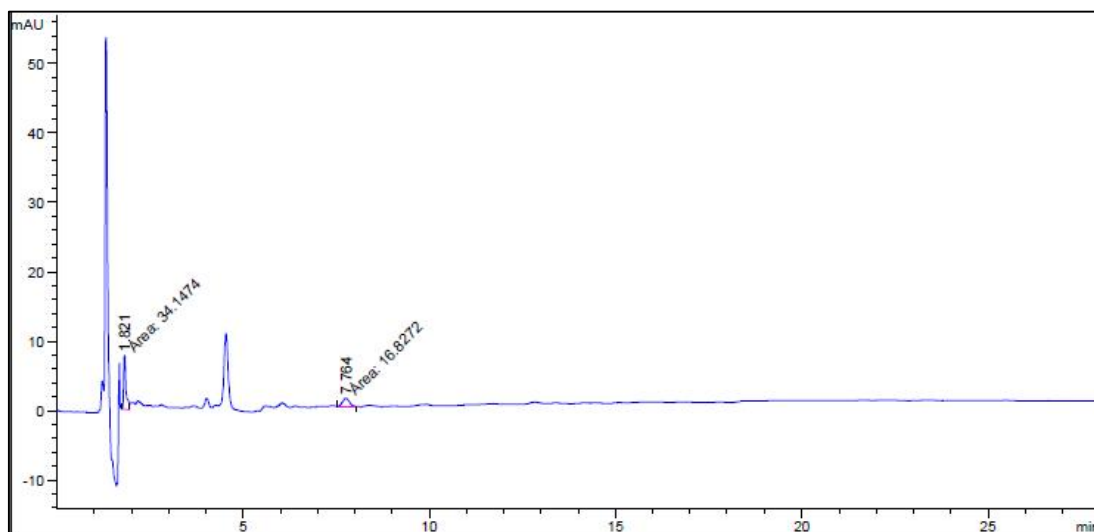
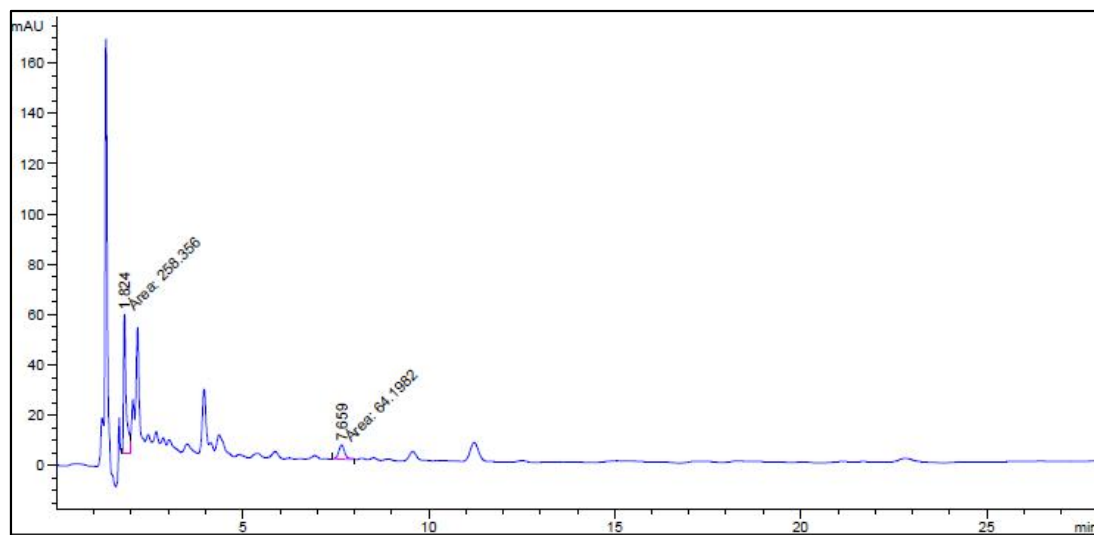
Muestra	Absorbancia 465nm $\pm$ 0,001		Absorbancia 665nm $\pm$ 0,001	
	AH	AF	AH	AF
FUP-1 1	1,753	0,077	0,819	0,018
FUP-1 2	1,682	0,041	0,74	0,01
FUP-1 3	1,865	0,099	0,782	0,024
FU-CAR 1	2,317	1,088	0,648	0,18
FU-CAR 2	2,353	1,019	0,633	0,153
FU-CAR 3	2,28	2,382	0,593	0,417

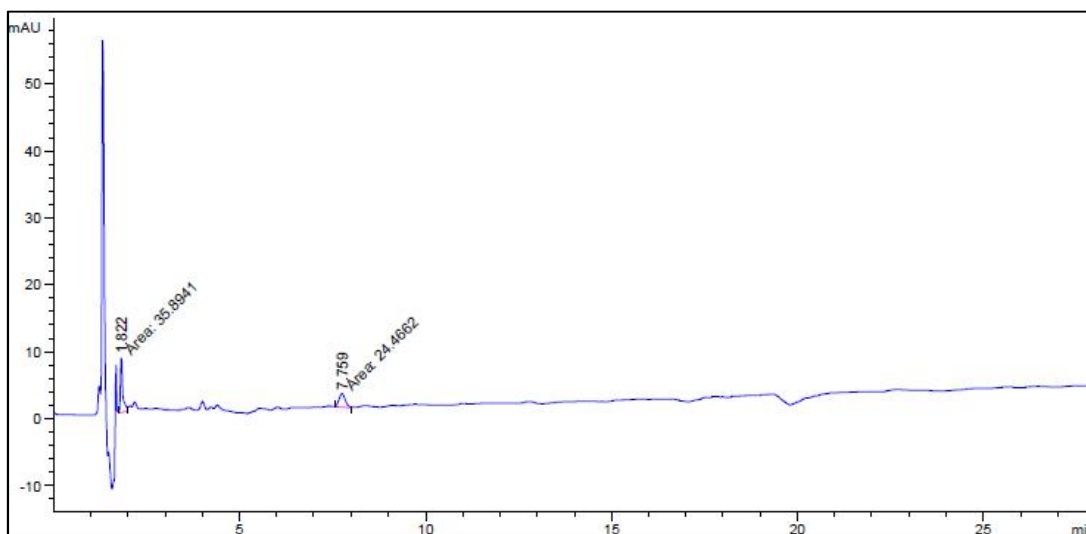
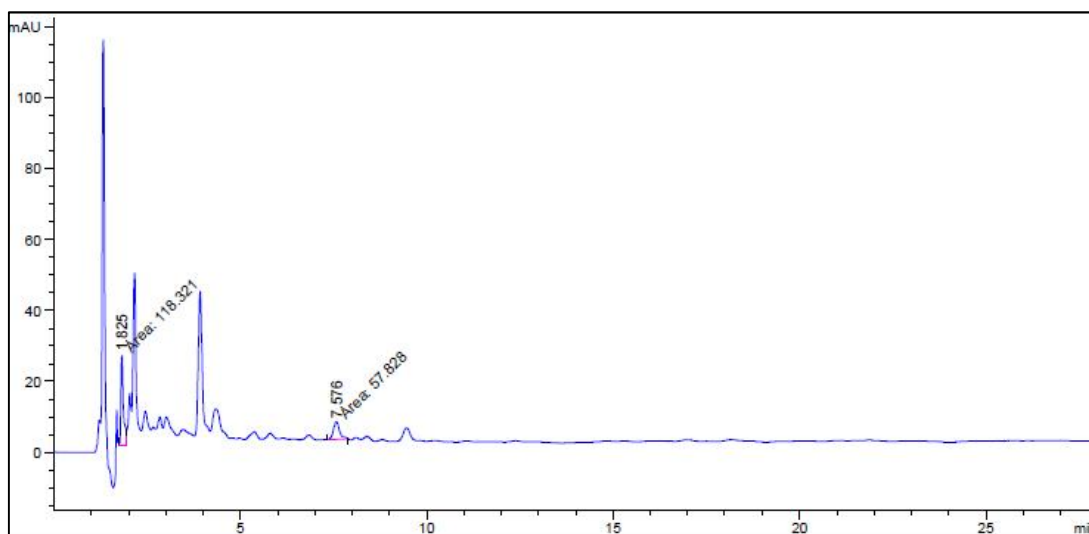
**Anexo 12.** Tabla de datos de la normalización de soluciones

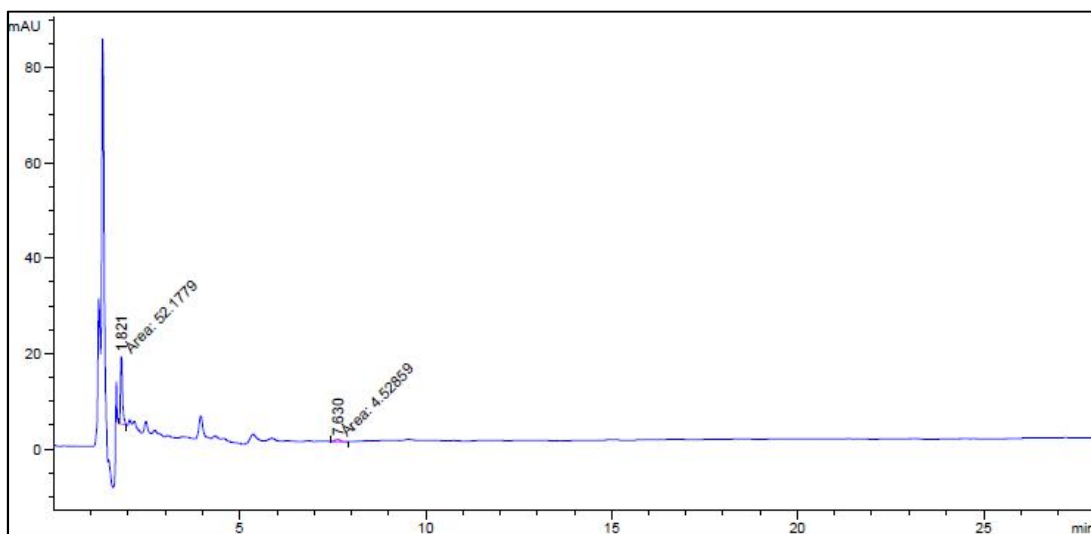
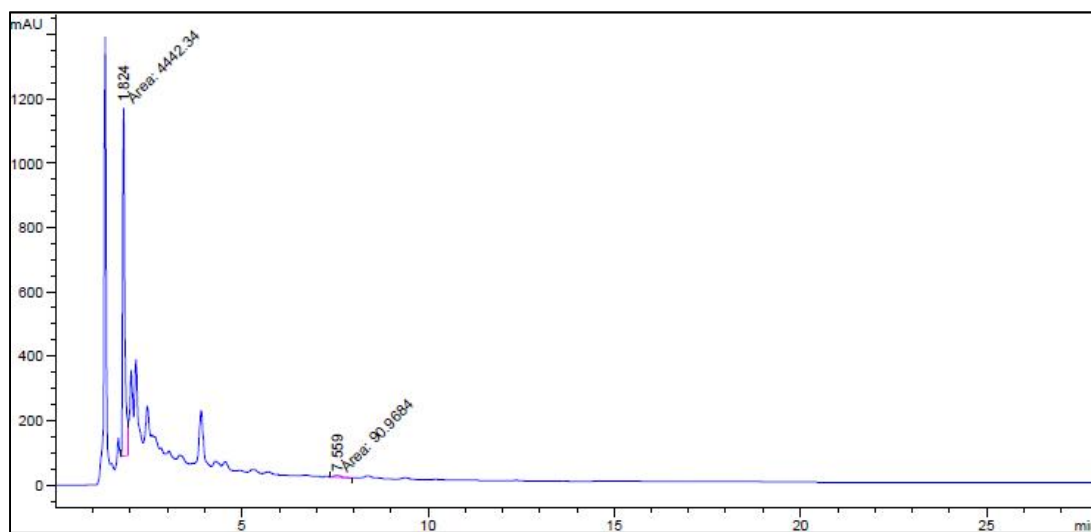
Muestra	Peso $\pm$ 0,0001g	%Pureza	Volumen (mL)	Concentración (mg/L)
Ca(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	1,7842	93,5	200	0,0527 $\pm$ 0,0003
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2,7577	99	100	0,2576 $\pm$ 0,0004
C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub>	5,2080	99,8	100	0,2545 $\pm$ 0,0004

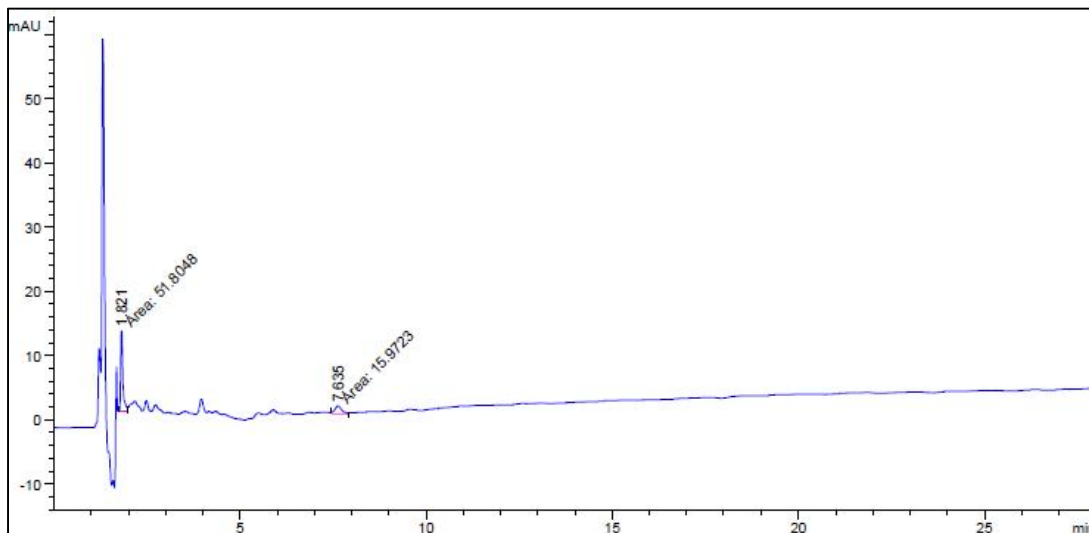
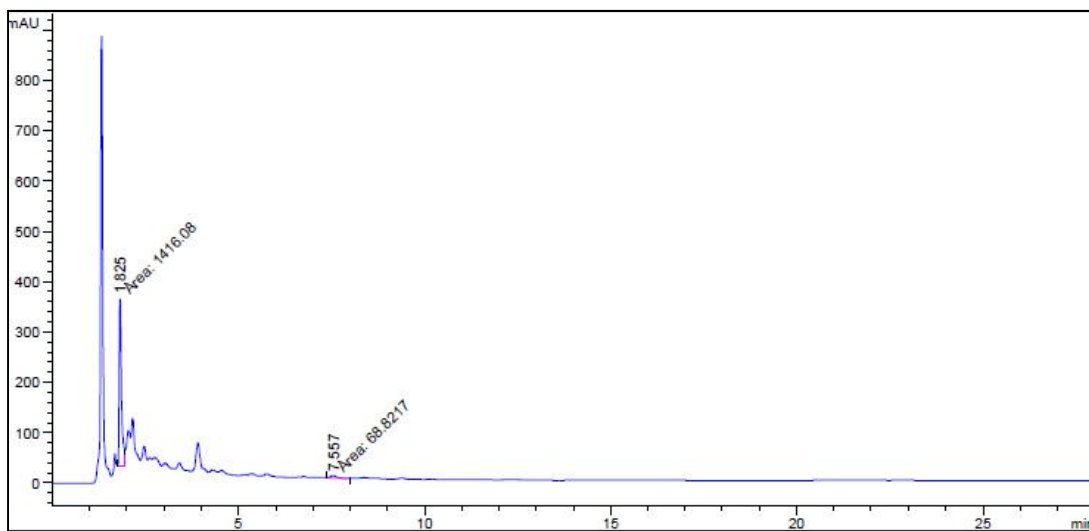
**Anexo 13.** Tabla de datos de la titulación potenciométrica

Muestra	Peso $\pm$ 0,0001 g		Volumen inicial (mL)		Vtitulan $\pm$ 0,01 mL	
	Acidez Total	Grupo Carboxílico	Ba(OH) <sub>2</sub>	Ca(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	HCl	NaOH
FU-CAR 1 A.H.	0,0536	0,0493	10	10	6,75	0,25
FU-CAR 2 A.H.	0,0516	0,0503	10	10	6,60	0,20
FU-CAR 3 A.H.	0,0521	0,0516	10	10	6,75	0,30
FUP-1 1 A.H.	0,0496	0,0478	10	10	7,20	0,16
FUP-1 2 A.H.	0,0525	0,0468	10	10	6,90	0,15
FUP-1 3 A.H.	0,0382	0,0200	10	5	7,35	0,10
FU-CAR 1 A.F.	0,0197	0,0172	4	4	1,50	0,38
FU-CAR 2 A.F.	0,0211	0,0305	4	5	1,20	0,65
FU-CAR 3 A.F.	0,0241	0,0174	4	4	1,11	0,40
FUP-1 2 A.F.	0,0030	0,0010	2	2	1,55	0,02

**Anexo 14.** Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FUP-1 2**Anexo 15.** Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FUP-1 2

**Anexo 16.** Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FUP-1 3**Anexo 17.** Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FUP-1 3

**Anexo 18.** Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FU-CAR 2**Anexo 19.** Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FU-CAR 2

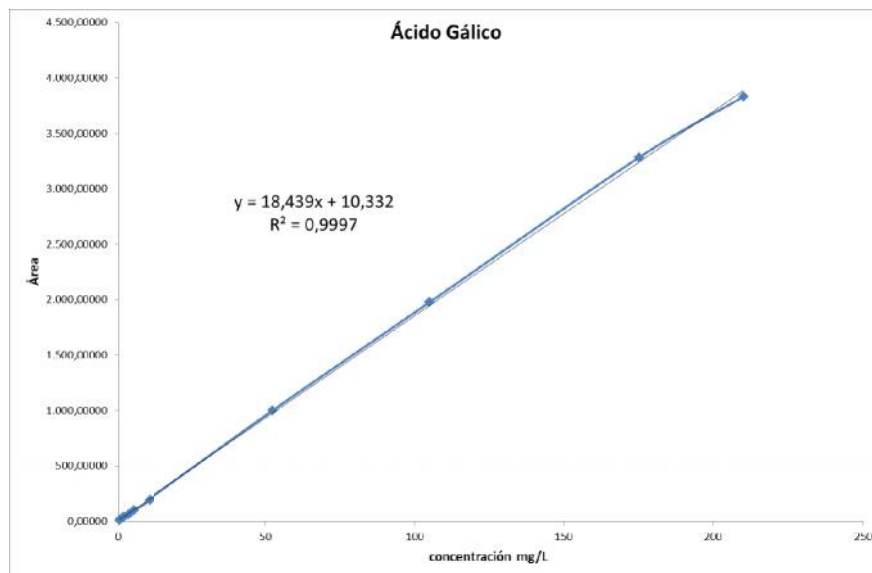
**Anexo 20.** Cromatograma para la fracción de AH de la muestra FU-CAR 3**Anexo 21.** Cromatograma para la fracción de AF de la muestra FU-CAR 3

**Anexo 22.** Tabla de datos de la identificación de compuestos fenólicos por HPLC

Muestras	Área Ácido Gálico		Área Vainillina		Área Ácido Salicílico	
	AH	AF	AH	AF	AH	AF
<b>FU-CAR 1</b>	64,89738	1.293,49219	30,00803	51,39698	N.D	N.D
<b>FU-CAR 2</b>	52,17793	4.442,34473	4,52859	90,96838	N.D	N.D
<b>FU-CAR 3</b>	51,80480	1.416,08362	15,97228	68,82170	N.D	N.D
<b>FUP-1 1</b>	28,16018	230,61278	8,39699	68,37901	N.D	N.D
<b>FUP-1 2</b>	34,14738	258,35635	16,82718	64,19825	N.D	N.D
<b>FUP-1 3</b>	35,89406	118,32128	24,46618	57,82801	N.D	N.D

**Anexo 23.** Concentraciones utilizadas para la curva de calibración externa del ácido gálico y de la vainillina.

Patrón	Ácido Gálico (mg/L)	Vainillina (mg/L)
<b>P1</b>	0,4 ± 0,1	1,0 ± 0,3
<b>P2</b>	1,0 ± 0,3	2,87 ± 0,09
<b>P3</b>	1,8 ± 0,2	4,17 ± 0,06
<b>P4</b>	3,5 ± 0,1	6,78 ± 0,04
<b>P5</b>	5,26 ± 0,07	9,39 ± 0,03
<b>P6</b>	10,51 ± 0,04	10,43 ± 0,03
<b>P7</b>	52,560 ± 0,009	26,08 ± 0,01
<b>P8</b>	105,120 ± 0,006	39,120 ± 0,009
<b>P9</b>	175,200 ± 0,004	65,200 ± 0,006
<b>P10</b>	210,240 ± 0,004	104,320 ± 0,005

**Anexo 24.** Curva de calibración externa para el ácido gálico**Anexo 25.** Curva de calibración externa para la vainillina