



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**INTERACCIÓN DE SUSTANCIAS HÚMICAS ACUÁTICAS CON As,  
Cu, Mn Y Zn.**

## **TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE:  
DOCTOR(A) EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**MARÍA DE JESÚS GONZÁLEZ GUADARRAMA**

### **TUTOR(A) O TUTORES PRINCIPALES:**

**DRA. MARÍA AURORA ARMIENTA HERNÁNDEZ  
INSTITUTO DE GEOFÍSICA, UNAM**

### **COMITÉ TUTOR:**

**DR. FERNANDO ANTONIO GONZÁLEZ FARÍAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM**

**DR. FEDERICO PÁEZ OSUNA  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, MAZATLÁN, UNAM**

**DRA. GLORIA VILA CLARA FATJO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM**

**DRA. SILVIA ELENA CASTILLO BLUM  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM**

**MÉXICO, CD. MX., NOVIEMBRE, 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**INTERACCIÓN DE SUSTANCIAS HÚMICAS ACUÁTICAS CON As,  
Cu, Mn Y Zn.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:  
**DOCTOR(A) EN CIENCIAS**

PRESENTA:  
**MARÍA DE JESÚS GONZÁLEZ GUADARRAMA**

**TUTOR(A) O TUTORES PRINCIPALES:**

DRA. MARÍA AURORA ARMIENTA HERNÁNDEZ  
INSTITUTO DE GEOFÍSICA, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**

DR. FERNANDO ANTONIO GONZÁLEZ FARÍAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM

DR. FEDERICO PÁEZ OSUNA  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, MAZATLÁN, UNAM

DRA. GLORIA VILA CLARA FATJO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

DRA. SILVIA ELENA CASTILLO BLUM  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

**MÉXICO, CD. MX., NOVIEMBRE, 2018**

## AGRADECIMIENTOS

A Dios porque sin él no soy nada.

A la UNAM por la oportunidad de formarme en sus aulas y con sus recursos, en específico al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología.

Al CONACYT por el apoyo de beca para poder realizar mis estudios de doctorado.

A mis papás, hermanas y sobrinos por todo el amor y apoyo que me han brindado.

A mis tíos y primos que me han apoyado y brindado cariño durante mi vida.

A la Dra. María Aurora Armienta por todos estos años de compartir experiencias y apoyo para lograr la investigación objeto de esta tesis.

A la Dra. Gloria Vilaclara por todo el tiempo destinado para la mejora de mi trabajo y su apoyo personal.

A la Dra. Silvia Castillo por su tiempo, consejos y enseñanzas.

Al Dr. Fernando González por todo el apoyo para mi trabajo y sus consejos para mejorar el proyecto.

Al Dr. Federico Páez por su apoyo y comentarios.

A Alejandra Aguayo y Olivia Cruz por su apoyo técnico para el desarrollo experimental de mi tesis, además de su amistad.

A Nora Ceniceros por su apoyo técnico en la parte experimental de la tesis.

A Diana Juárez, Guadalupe Godoy, Chantal y Gabriela Almaraz por el apoyo durante todos estos años.

A mis queridos compañeros y amigos del laboratorio: Esther, Azu, Dianis, Alex, Migue, Toñito, Osw, Quei y Marce con quienes compartí momentos entrañables durante este tiempo.

A mis amigos del Instituto de Geofísica: Marce, Ale, Tham, Rosa María, Irv por todo el apoyo y vivencias que hemos tenido juntos.

A Marcela Errasti por el apoyo técnico en la caracterización de mis muestras.

A la Dra. Mariela Bravo por su apoyo y enseñanzas sobre la técnica de XPS.

## RESUMEN

El presente trabajo contiene información sobre la capacidad de complejación de las sustancias húmicas acuáticas (SHA) procedentes de diferentes sitios con condiciones físico-químicas diversas: dos Ríos brasileños (Itapanhaú y Sorocaba) y un humedal mexicano ("lago" Xochimilco), los cuales presentan características diferentes; sin embargo, se encontró que su capacidad de complejación es estadísticamente igual.

Otro factor que se consideró fue la variación de condiciones de reacción, propiamente el pH (4.5, 6.0, 7.5 y 9.0). Los resultados mostraron que los valores óptimos de complejación se encuentran en el intervalo de 6.0-8.0, que -acompañado por la caracterización de IR y XPS- indican que el grupo funcional favorecido para reaccionar es el carboxilo y no el fenólico o amino.

Las reacciones de complejación se efectuaron con 4 elementos As, Cu, Mn y Zn; el As mostró muy baja reactividad de manera general; el Cu reaccionó en las diferentes condiciones de pH con una mayor cuantitatividad a pH menor; las mayores cuantitatividades las mostró el Zn, salvo en pH de 4.5, en donde su reactividad fue básicamente nula.

El Mn, pese a lo estudiado previamente, presentó reactividad superior al Cu salvo en pH de 4.5, donde fue inferior; además, mostró que dismuta en medios acuosos y tiene la capacidad de oxidar la materia orgánica y generar el carbonato correspondiente.

En conclusiones generales del estudio se puede decir que: las SHA no presentan una capacidad de complejación diferente en función de su origen, que el sitio activo para reaccionar será preferentemente los grupos carboxilos y que en condiciones naturales sí se pueden formar los complejos entre SHA y metales.

## **ABSTRACT**

The present work contains information on the complexation capacity of aquatic humic substances (AHS) from different sites with diverse physical-chemical conditions: two Brazilian rivers (Itapanhaú and Sorocaba) and one Mexican wetland (known as Xochimilco “lake”), which have different characteristics; however, their complexation capacities are statistically the same.

Another factor considered was the variation of reaction conditions, properly the pH (4.5, 6.0, 7.5 and 9.0). Results showed that the optimal complexation values are in the range of 6.0-8.0, which jointly with the IR and XPS characterization, indicated that the functional group most favoured to react is the carboxyl instead of the phenolic or amino.

The complexation reactions were carried out with four elements As, Cu, Mn and Zn; As showed in general very low reactivity, Cu reacted at the different pH conditions, having greater quantitativity at lower pH; the greatest quantitativities were shown by Zn, except at pH 4.5, where its reactivity was practically zero.

Mn, in spite of what was previously studied, showed a greater reactivity than Cu, except at pH 4.5, where it was lower; in addition, it dismutates in aqueous media and exhibited the ability to oxidize organic matter and generate the corresponding carbonate.

In general it can be concluded that AHSs do not present different complexation capacities depending on their origin, as well as the active site to react will preferably be the carboxyl groups, and that complexes between AHS and metals can be formed under natural conditions.

## Índice

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	4, 79
2.1.1 Origen y formación.....	4
2.1.2 Clasificación .....	6
2.1.2.1 Ácidos fúlvicos .....	6
2.1.2.2 Ácidos húmicos .....	7
2.1.2.3 Huminas.....	8
2.1.3 Características .....	9
2.1.4. Aplicaciones.....	10
2.2 Complejos .....	11
2.2.1. Definición .....	11
2.3. Ligantes.....	12
2.3.1. Monodentados .....	13
2.3.2 Polidentados.....	13
2.4. Capacidad de complejación.....	13
2.5. Aplicaciones de compuestos complejos .....	14
2.6. Elementos químicos objeto de estudio.....	14
2.6.1. Arsénico (As).....	15
2.6.1.1. Características generales .....	15
2.6.1.2. Toxicidad .....	16
2.6.2 Cobre (Cu).....	17
2.6.2.1. Características generales .....	17
2.6.2.2 Toxicidad .....	18
2.6.2.3. Reactividad .....	18
2.6.3. Manganeso (Mn).....	19
2.6.3.2 Toxicidad .....	19
2.6.3.3. Reactividad .....	20
2.6.4. Zinc (Zn).....	21
2.6.4.2 Toxicidad .....	21
2.6.4.3. Reactividad .....	22
2.7. Constantes de equilibrio .....	23
2.7.1. Definición .....	23
2.7.2 Constantes condicionales de equilibrio.....	25
<b>3. Antecedentes</b> .....	25
4. Características hidrogeológicas de los sitios origen de las muestras .....	26
4.1. Ríos Itapanhaú y Sorocaba.....	26
4.2 Lago Xochimilco.....	29
5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN .....	32
<b>6. HIPÓTESIS</b> .....	32
<b>7. OBJETIVOS</b> .....	33

7.1. Objetivos específicos .....	33
<b>8. METODOLOGÍA</b> .....	34
8.1. Experimentación .....	34
8.2 Cuantificación .....	38
8.2.1. Espectroscopía de absorción atómica (EAA) .....	38
8.3. Caracterización .....	39
8.3.1. Infrarrojo (IR).....	39
8.3.2 Microscopía electrónica de barrido .....	39
8.3.3. Espectroscopía de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X.....	40
8.4 Determinación de constantes de equilibrio .....	41
8.4.1. Teórica .....	41
<b>9. RESULTADOS</b> .....	42
9.1 Descripción de los complejos formados.....	42
9.2 Constantes de equilibrio .....	45
<b>10. DISCUSIÓN</b> .....	53
10.2 Dinámica esperada en relación a los complejos formados entre las SHA y los metales en el Lago de Xochimilco .....	71
<b>11. CONCLUSIONES</b> .....	74
<b>12. REFERENCIAS</b> .....	75

## Casos

Fig 16. Gráfico del log de la constante de complejación en función del pH determinados para el As.....	46
Fig 2. Ácidos fúlvicos aislados en el laboratorio de Química Analítica a partir de muestras del Lago de Xochimilco .....	7
Fig 33. En la parte superior se aprecia el espectro de IR del complejo SHA-Mn, en la parte intermedia la imagen tomada en el MEB para el compuesto y en la sección inferior se observa el análisis elemental.....	64
Fig 5 Estructura general propuesta para las SH, la imagen es modificada de <a href="https://www.acidoshumicos.com/materia-organica-y-sustancias-humicas">https://www.acidoshumicos.com/materia-organica-y-sustancias-humicas</a> . .....	10
Fig. 1. Estructuras moleculares de los principales compuestos que dan origen a las SH a) Ácidos tánicos, b) Lignina, c) Proteínas y d) Celulosa .....	5
Fig. 10 Diagrama de especiación para el Zn, en función de pH y potencial redox en fase acuosa en concentración $10^{-3}M$ realizado con el programa GWB Student.....	22
Fig. 11. Imagen donde se muestra la ubicación dentro del territorio brasileño e imágenes representativas de los Ríos Itapanhaú y Sorocaba. ....	29
Fig. 12 Imagen de la ubicación dentro del territorio mexicano e imagen representativa del Lago de Xochimilco.....	31
Fig. 13. Esquema mostrando los pasos de la reacción, en donde primero se adicionan los reactivos, para proceder a la agitación durante 1 h; después se realizó el proceso de ultrafiltración; el metal libre se cuantificó en las aguas madres, y finalmente se muestran los complejos aislados.....	37
Fig. 15 a) Imagen del complejo SHA-Cu con el color verde típico de compuestos de cobre. b) Imagen del complejo de SHA-Mn se aprecia el color marrón, correspondiente a compuestos de Mn con estado de oxidación (II). c) Imagen del complejo SHA-Zn .....	45
Fig. 17. Gráfico del logaritmo de la constante de complejación en función del pH determinados para el Cu .....	47

Fig. 18. Gráfico del logaritmo de la constante de complejación en función del pH determinados para el Mn.....	47
Fig. 19. Gráfico del logaritmo de la constante de complejación en función del pH determinados para Zn.....	48
Fig. 20. Gráfico donde se muestra la capacidad de complejación de las SHA con respecto de As en función de las condiciones de pH .....	49
Fig. 21. Gráfico donde se muestra la capacidad de complejación de cada una de las SHA con respecto de Cu en función de la variación de pH. ....	49
Fig. 23. Gráfico donde se pueden observar las variaciones de la capacidad de complejación de las diferentes SHA en función del pH con respecto del Zn.....	50
Fig. 24. Espectro de IR de las SHA de Xochimilco aisladas en el laboratorio. ....	54
Fig. 25 Gráfico del comparativo de la concentración de cada elemento que reaccionó con las SHA de Sorocaba, bajo las diferentes condiciones de pH, en las abscisas encontramos al pH y las ordenadas corresponden al valor de la concentración del elemento que reaccionó (mg L <sup>-1</sup> ) .....	55
Fig. 26. Gráfico del comparativo de la concentración de cada elemento que reaccionó con las SHA de Sorocaba, bajo las diferentes condiciones de pH, en las abscisas encontramos al pH y las ordenadas corresponden al valor de la concentración del elemento que reaccionó (mg L <sup>-1</sup> ). ....	56
Fig. 27. Gráfico del comparativo de la concentración de cada elemento que reaccionó con las SHA de Sorocaba, bajo las diferentes condiciones de pH, en las abscisas encontramos al pH y las ordenadas corresponden al valor de la concentración del elemento que reaccionó (mg L <sup>-1</sup> ) .....	57
Fig. 28. Espectro de Infrarrojo para el complejo SHA-Cu. ....	59
Fig. 29. En la parte superior se observa la imagen del complejo SHA-Cu observado con el MEB y en la parte inferior el análisis semicuantitativo del compuesto, en el que se aprecia al Cu en la estructura.....	60
Fig. 3 Ácidos húmicos aislados en el laboratorio de Química Analítica a partir de muestras de agua del lago de Xochimilco .....	8
Fig. 30. Comparativo de los espectros de infrarrojo del primer compuesto aislado para Mn (a) y el teórico (b) del carbonato del metal antes mencionado, en donde se aprecia la concordancia de los espectros. ....	61
Fig. 31. En la parte superior se observa la imagen del compuesto formado que se atribuyó al MnCO <sub>3</sub> y en la parte inferior el análisis semicuantitativo del mismo.....	62
Fig. 32. Espectro de infrarrojo para el complejo de Mn-SHA después, cuando se repitió la reacción, en donde se aprecia la presencia de materia orgánica a diferencia del espectro anterior .....	63
Fig. 34. Espectro de IR para el complejo Zn-SHA, que muestra bandas características de reacción de complejación a partir de los grupos carboxilos .....	66
Fig. 35. En la parte superior se aprecia el complejo SHA-Zn observado a través del MEB y en la parte inferior se muestra el análisis elemental semicuantitativo del compuesto formado. ....	67
Fig. 36. Gráfico de comparación entre la reactividad en función del grupo saliente, sulfato y cloruros en las reacciones bajo las diferentes condiciones de pH .....	68
Fig. 4 Huminas aisladas, modificado de <a href="http://www.importancia.org/humus.php">http://www.importancia.org/humus.php</a> .....	8

Fig. 6 Diagrama que muestra la tendencia de reactividad correspondiente a la serie Irving - Williams modificado de <a href="http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/IrvWill.html">http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/IrvWill.html</a> .....	15
Fig. 7 Diagrama de especiación de As en función del pH y potencial redox en fase acuosa con una concentración de $10^{-3}$ M realizado con el programa GWB Student. ....	17
Fig. 8 Diagrama de especiación para el Cu, en función del pH y potencial redox en fase acuosa $10^{-3}$ M realizado con el programa GWB Student .....	19
Fig. 9 Diagrama de especiación para el Mn, en función de pH y potencial redox en fase acuosa en concentración $10^{-3}$ M realizado con el programa GWB Student.....	21
Fig.22. Gráfico donde se muestra la capacidad de complejación de las diferentes muestras de SHA con respecto del Mn bajo las diferentes condiciones de pH .....	50

## Índice de Tablas

Tabla 1. Los estudios de los ríos y lago fuente de las sustancias húmicas objeto de esta investigación muestran la información química según de Oliveira et al (2015) para los Ríos Sorocaba e Itapanhaú.

Tabla 2 Los análisis físico-químicos realizados a muestras de agua del Lago de Xochimilco en el laboratorio de Química Analítica del Instituto de Geofísica

Tabla 3. Características del agua desionizada empleada para el desarrollo experimental

Tabla 4. Características de los reactivos empleados para el desarrollo experimental del proyecto

Tabla 5. Cantidades requeridas por reactivo para el desarrollo experimental

Tabla 6. Cantidad en mg de los reactivos necesarios para la elaboración de las disoluciones amortiguadoras, en concentración 1 M, cabe mencionar que para la obtención del ácido carbónico fue necesario realizar la reacción entre bicarbonato de sodio y ácido clorhídrico.

Tabla 7. Información necesaria de la curva de calibración y límite de detección, así como coeficiente de correlación obtenido para cada elemento

Tabla 8. Región en la zona del infrarrojo, que permite la identificación de los grupos funcionales de una sustancia húmica (Abbt-Braun et al., 2004)

Tabla 9. Indica las bandas con las que se puede identificar cada elemento, para los no metales el intervalo en el que pueden encontrarse dependiendo del enlace en el que participen

Tabla 10. Valores de absorbancias de cada muestra en las diferentes longitudes propuestas para el análisis de polimerización y en la última columna se muestra el valor de la razón entre ellas para su interpretación.

Tabla 11. Valores obtenidos de la prueba t de student para las reacciones efectuadas entre las diferentes sustancias húmicas acuáticas y el As

Tabla 12. Valores obtenidos de la prueba t de student para las reacciones efectuadas entre las diferentes sustancias húmicas acuáticas y el Cu

Tabla 13. Valores obtenidos para la prueba t de student de las constantes de equilibrio de las reacciones efectuadas entre las sustancias húmicas acuáticas y el Mn.

Tabla 14. Valores obtenidos para la prueba t de student de las constantes de equilibrio de las reacciones efectuadas entre las sustancias húmicas acuáticas y el Zn

Tabla de abreviaturas:

Abreviatura	Significado
SH	Sustancias Húmicas
SHA	Sustancias Húmicas Acuáticas
SHAS	Sustancias Húmicas Acuáticas de Sorocaba
SHAI	Sustancias Húmicas Acuáticas de Itapanhaú
SHAX	Sustancias Húmicas Acuáticas de Xochimilco
IR	Infrarrojo
XPS	Espectroscopia de Fotoelectrones Emitidos por RayosX
AF	Ácidos Fúlvicos
AH	Ácidos Húmicos
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
UV/vis	Ultravioleta/visible
MEB	Microscopia Electrónica de Barrido





## 1. INTRODUCCIÓN

Las investigaciones ambientales y clínicas, por mucho tiempo se enfocaban en la determinación de concentración total de diferentes metales y compuestos para determinar su toxicidad. Actualmente se emplea información como la especiación química de los elementos y condiciones físico-químicas del sistema objeto de estudio para realizar predicciones de transporte, toxicidad, biodisponibilidad y bioacumulación (Goveia et al., 2010).

El estudio de la interacción de materia orgánica con elementos traza, también llamados “oligoelementos”, se convierte en un pilar trascendente, ya que el proceso de formación de complejos repercute directamente en la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de ciertos elementos; además, las reacciones de complejación pueden variar su toxicidad.

Como parte de la materia orgánica capaz de formar complejos encontramos las sustancias húmicas (SH); compuestos orgánicos producto de la polimerización de productos de la degradación de moléculas orgánicas complejas como carbohidratos, proteínas, grasas, así como desechos de raíces, organismos muertos y excrementos (Elkins y Nelson, 2001).

Las SH son consideradas polielectrolitos naturales, cuya estructura molecular posee grupos funcionales como carboxilos, fenoles, amino, hidróxidos entre otros, que poseen una gran reactividad para formar complejos con metales presentes, ya sea en suelos o sistemas acuáticos (Christman y Gjessing, 1983).

La capacidad de formar complejos se puede cuantificar por medio de constantes de equilibrio, las cuales se determinan con la relación de concentraciones al equilibrio entre productos y reactivos. Las constantes de equilibrio se afectan o modifican por la temperatura. Factores que pueden modificar el equilibrio es la especiación de los elementos, lo cual está en función de la variación de pH y condiciones óxido-reductoras que nos lleva a encontrar los equilibrios condicionales.

Otro factor determinante de la formación de complejos en el agua es la especiación de los elementos, ya que suelen encontrarse como iones libres o como oxoaniones

o cationes, en función del pH y potencial redox, o bien de otros elementos químicos presentes. En sistemas acuáticos, la presencia de SH puede generar condiciones anóxicas, ácidas y reductoras (Elkins y Nelson, 2001).

La reactividad de los elementos de transición es muy variable, dependiendo del ligante que sea empleado; sin embargo, en estudios con diferentes compuestos se observa una clara tendencia de cada elemento; en específico con la primera serie de transición, el elemento más reactivo es el Cu y el menos corresponde al Mn (Irving y Williams, 1958).

Las Sustancias Húmicas Acuáticas (SHA) pueden colorear el agua desde una concentración de 4 mg L<sup>-1</sup> (Camargo y Cruz, 1999), sin que estén involucradas en el proceso de eutrofización, como ocurre en los lagos finlandeses que son considerados polihúmicos (Pennanen, 1988; Salonen et al., 1992). Thurman et al. (1982) proponen que las SHA podrían ser importantes para amortiguar inorgánicamente el pH dentro de los sistemas acuáticos, tal como ocurre en los suelos.

Chen et al. (2007) indican que las SHA -como son los Ácidos Húmicos (AH) y Ácidos Fúlvicos (AF)- son el principal componente de coloides orgánicos en aguas profundas. Por otro lado Reuter y Perdue (1977) indican que no existe una diferencia química entre las SHA acuáticas y las de suelo. Como se mencionará posteriormente, dentro de las aplicaciones de las SH encontramos que pueden reaccionar con metales, plaguicidas y otros componentes dañinos al ambiente; por lo tanto, el estudio de la influencia de las SHA dentro de los sistemas acuáticos es muy importante (Rocha et al., 2000; Chen et al., 2007).

En general, las SH pueden influir en la especiación, control de disponibilidad biológica, propiedades físico-químicas, así como la adsorción-desadsorción de micro y macronutrientes (Chen et al., 2007). Dentro de estos micro y macronutrientes encontramos los metales, los cuales son requeridos para el desarrollo de procesos bioquímicos.

Incluso existen algunos modelos de transporte en los que se han empleado las SH, en las que se indica que éstas se vinculan con el proceso de distribución entre fases sólida y líquida que se presentan en sistemas acuáticos (Lippold y Lippman-Pipke, 2009).

Las reacciones con SHA pueden modificar la toxicidad de los compuestos, por ejemplo: se considera que potencian la toxicidad de anilinas, fenoles clorados o metilados, pero también la pueden disminuir, como es el caso de algunos metales (Cd, Cu, Pb) (Camargo y Cruz, 1999).

Las reacciones de complejación con materia orgánica, especialmente con AH y AF, resultan muy importantes para el transporte, biodisponibilidad y toxicidad de los metales en suelos y aguas (Cabaniss, 2009). Se considera que los complejos que puedan formar con los metales estarán en función del tipo de agua presente en el sistema acuático.

Los metales se encuentran en los sistemas acuáticos de forma natural por contribución mineralógica o de los organismos allí presentes, pero también por aportes antropogénicos, y la concentración de ellos es muy importante porque suelen ser micronutrientes, es decir; un déficit de ellos genera un ambiente de estrés para los organismos que allí habitan, pero un exceso puede ser tóxico (Margalef, 1983).

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Sustancias húmicas (SH)**

Para entender este trabajo es preciso definir qué son las sustancias húmicas (SH) y su importancia ecológica, por lo que en el presente capítulo se explican estos conceptos.

Las SH son el resultado de un proceso de degradación y posterior polimerización de residuos de algas, plantas, biomasa microbiana, entre otros (Allard et al., 1989). Son compuestos orgánicos considerados como polielectrolitos naturales, que cumplen con el equilibrio de Donnan (Livens, 1991; Barschat et al., 1992; Tipping y Hurley, 1992; Pandey et al., 2000; Rocha et al., 2000, Zaccone et al., 2009) y son macromoléculas conformadas por una mezcla de moléculas de peso molecular bajo, como azúcares, péptidos y compuestos heterocíclicos (Peña-Mendez et al., 2005). Se caracterizan por comportarse en forma refractaria –es decir, no son biodegradables- cuando se encuentran disueltos dentro del agua

Las SH son el gran reservorio de carbono orgánico en suelos, donde se dividen en huminas, ácidos húmicos y fúlvicos, los cuales se pueden extraer y separar por precipitaciones alternadas alcalinas y ácidas (Peña-Méndez et al., 2005).

Chen et al. (2007) mencionan que a pH bajo y altas concentraciones salinas, las SH forman coloides esféricos, mientras que a pH alto y bajas concentraciones salinas tienen una estructura lineal, en tanto que en ambientes naturales presentan estructuras heterogéneas. Avena et al. (1999) indican que a pH bajos las SH tienen estructuras lineales y flexibles y a pH altos se presentan como coloides esféricos y rígidos.

#### **2.1.1 Origen y formación**

Las SH tienen como principales precursores ligninas, ácidos tánicos, celulosa y proteínas, que tienen diferentes interacciones, lo que da lugar a moléculas con diferente estructura y variaciones en su grado de polimerización; son el mayor componente orgánico en la interfase agua-sedimento (Camargo y Cruz, 1999; Chen et al., 2007; Cabaniss, 2009 y Sachs y Bernhard, 2011). La acidificación de sistemas



2010). El grado de polimerización se incrementa conforme el material es más viejo y, simultáneamente, disminuye el contenido de heteroátomos.

El análisis elemental de diferentes muestras de SH indica que están compuestas de la siguiente forma: C (40-55%), H (4.8-6%), N (0.9-3%) y O (37-50%), variando sus proporciones de acuerdo con su antigüedad y grado de polimerización (Camargo y Cruz 1999).

### 2.1.2 Clasificación

Las SH se pueden clasificar de acuerdo con su solubilidad, composición e intervalo de peso molecular en: ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y huminas. Las características de las SH -como tamaño, composición química y grupos funcionales- difieren considerablemente en función del origen y edad del material (Liu et al., 2010).

2.1.2.1 Ácidos fúlvicos (AF): son compuestos solubles en agua, en medios alcalinos, ácidos y alcoholes, cuyos colores van de amarillo a amarillo-parduzco; los pesos moleculares se encuentran en un intervalo de 500 a 2000  $\text{gmol}^{-1}$ ; la composición elemental corresponde a: C (43.6%), H (4.9%), N (1.7%) y O (49.8%), en donde predominan grupos alifáticos más que aromáticos, abundan ácidos orgánicos y fenólicos; su estructura está dominada por compuestos tánicos, urónicos y aminoácidos; tienen un grado bajo de polimerización (Reuter, 1977 y Camargo y Cruz, 1999).



Fig 2. Ácidos fúlvicos aislados en el laboratorio de Química Analítica a partir de muestras del Lago de Xochimilco

2.1.2.2 Ácidos húmicos (AH): son compuestos solubles en agua y medios alcalinos, con colores que varían de café oscuro a gris oscuro; los pesos moleculares se encuentran en un intervalo entre 50,000 y 100,000  $\text{g mol}^{-1}$ ; la composición elemental determinada muestra valores de: C (51.7%), H (5.1%), N (2.9%) y O (40.3%), con predominio de grupos aromáticos procedentes de fenoles, quinonas, ácidos benzocarboxílicos, benzoicos y furánicos (Camargo y Cruz, 1999).



Fig. 3 Ácidos húmicos aislados en el laboratorio de Química Analítica a partir de muestras de agua del lago de Xochimilco

2.1.2.3 Huminas: Es la fracción más estable, insoluble, más común en suelos que en sistemas acuáticos, cuyo peso molecular supera los  $100,000 \text{ gmol}^{-1}$ , de coloración negra, cuya composición elemental es C (55.9%), H (5.9%), N (0.9%) y O (37.3%), con un alto grado de polimerización (Christman y Gjessing, 1983 y Camargo y Cruz, 1999).



Fig. 4 Huminas aisladas, modificado de <http://www.importancia.org/humus.php>

Otra clasificación se basa en su origen: pueden ser acuáticas o terrestres, las cuales -como su nombre indica- se encuentran en suelos o bien en medios acuáticos (ríos, lagos, manglares, océanos), por lo que la presencia de las moléculas antecesoras

estará en función de los organismos que habiten en la región y, en caso de los sistemas acuáticos, también los aportes biogénicos y acarreos correspondientes a la cuenca.

### 2.1.3 Características

Las propiedades de las SH, especialmente de AF y AH, dependen de los iones y enlaces presentes. Tanto en aguas naturales como en suelos, las SH muestran una gran capacidad de interacción con cationes, los cuales compiten para formar compuestos con ellas. Las sustancias húmicas acuáticas (SHA) son solubles y a bajas concentraciones se encuentran como coloides o bien suelen precipitar al formar complejos con cationes (Weber y Wilson, 1975; Mc Knight y Aiken, 1998; Chen et al., 2007).

El desarrollo de modelos relacionados con el comportamiento de AF ha sido aplicable a todas las SH debido a las características tan similares entre ellas. Se permite con mucha facilidad el intercambio catiónico con protones en los sitios de enlace que pertenecen a grupos carboxilo y ácidos débiles, como fenoles en pH menores a 7 (Rudd et al., 1984; Tipping y Hurley, 1992; Tipping et al., 2002; Goveia et al., 2010).

Munier-Lamy et al. (1986) indican que el grupo funcional más importante para la formación de complejos es el carboxilo y que este tipo de compuestos en suelos pueden ser causantes de la fijación de cationes polinucleares como los formados por uranio.

Las SH se caracterizan comúnmente por técnicas espectroscópicas como IR, RMN<sup>13</sup>C, RMN<sup>1</sup>H, UV/vis, a través de las cuales han identificado los grupos funcionales y proponen una estructura tal como se muestra en la figura 5 (Christman y Gjessing, 1983; de Paolis y Kukkonen, 1997; Zhang et al., 2011; Motuzova, 2012).

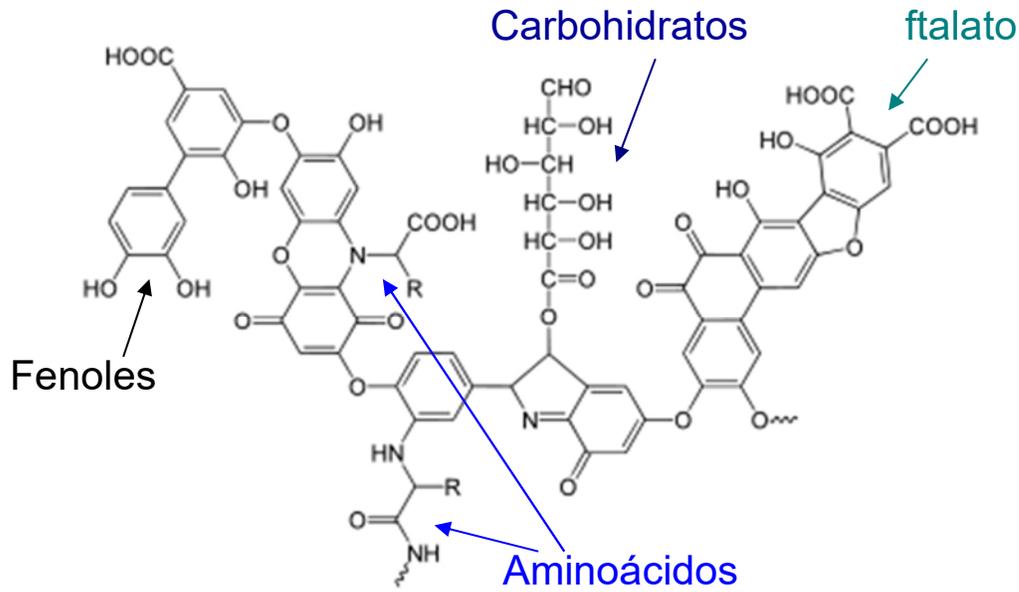


Fig 5 Estructura general propuesta para las SH; la imagen se ha modificado de <https://www.acidoshumicos.com/materia-organica-y-sustancias-humicas>.

#### 2.1.4. Aplicaciones

A las sustancias húmicas de origen terrestre y acuático se les han encontrado múltiples aplicaciones en diversas áreas:

2.1.4.1. Ambientales: a través de la formación de complejos con metales en agua, como transporte de radionúclidos, así como la migración de sustancias entre aguas profundas y superficiales; en la remoción, transporte o depósito de metales tóxicos, plaguicidas y otros contaminantes de origen antropogénico; en el intercambio iónico con elementos como Fe, Hg, Cd y Cu. También pueden interactuar con minerales como goetita y pirolusita que suelen funcionar como indicadores (Chen et al., 2007; Lippold y Lippmann-Pipke, 2009; Liu et al., 2010).

2.1.4.2 Medicina: empleados en antivirales, antiinflamatorios, como formador de complejos con Cd para eliminarlo de organismos, además de contar con posible actividad antibacteriana.

2.1.4.3. Agricultura: como abono principalmente (Peña Méndez et al., 2005), debido a que en ecosistemas terrestres funcionan como fuente de nutrientes a partir de su degradación por microorganismos como: bacterias, hongos y actinomicetos.

En sistemas acuáticos no se puede considerar la opción de biodegradación de las SH, por la ausencia de microorganismos capaces de hacerlo, otorgando así la característica particular de acumulación en condiciones de no biodegradabilidad, lo que produce aguas cafés ricas en materia orgánica refractaria, pero comúnmente oligotróficas por carecer de los nutrientes aprovechables suficientes.

## 2.2 Complejos

Una parte medular de este trabajo es la formación de complejos y su importancia ambiental. Por ello, entender qué es un complejo y sus características resulta relevante en esta parte del capítulo.

### 2.2.1. Definición

Las principales contribuciones sobre el estudio de compuestos complejos o de coordinación las introdujo Werner a principios del siglo XX. Entendemos que reciben el nombre de complejos la serie de compuestos formados entre metales de transición y moléculas orgánicas o inorgánicas, que no cumplen con las reglas normales de valencia, debido a que la interacción se genera empleando orbitales s, p y d. Los metales de transición cuentan con orbitales parcialmente ocupados y vacíos, situación que les permite formar complejos estables y fuertes (Zhou, 2005; Huheey, 2007; Town, 2008).

Un complejo es un compuesto químico formado por un metal (átomo central) y una molécula de origen orgánico o inorgánico denominadas ligante, unidas por medio de enlaces covalentes, covalente coordinado, iónicos, puentes de hidrógeno o simplemente por interacciones electrostáticas, como en el caso del benceno (Tipping, 1998; Tipping, 2005).

La formación de los complejos puede estudiarse como una reacción ácido-base, bajo el concepto de Lewis (que aportó conceptos sobre enlace covalente, estructura molecular y ácido-base), en donde el metal se considera un ácido y el ligante una base; entre los átomos donadores encontramos iones haluros, oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo y algunos compuestos de carbono (Reuter, 1977; Rudd et al., 1984; Lambert et al., 1995).

La geometría de los compuestos de coordinación se determina según el estado de oxidación del ión metálico y naturaleza de los átomos donadores; el número de coordinación corresponde a la cantidad de interacciones con átomos donadores unidos al átomo central. Las propiedades de los compuestos de coordinación varían según el tipo de interacciones electrostáticas y conformación estérica. La explicación sobre dichos compuestos se basa principalmente en tres teorías:

a) Teoría de enlace valencia: los principales aportes proceden de Linus Pauling (1930), cuya contribución al estudio de los complejos corresponde a la explicación sobre la presencia de orbitales que actúan como espacios vacíos que aceptan pares de electrones, además de racionalizar la relación enlace.

b) Teoría de campo cristalino: Bethe (1929) aportó el modelo principal, previamente aplicado en la teoría del estado sólido, que explica las interacciones electrostáticas entre ligante e ión metálico, pero muestra deficiencias para explicar las interacciones de los orbitales d.

c) Teoría de los orbitales moleculares: explica el aumento del tamaño de los orbitales debido a la combinación de los orbitales del metal y el ligante, generando que la distancia entre electrones aumente y por tanto, su repulsión disminuya efecto conocido como nefelauxético (Huheey et al., 2007).

### 2.3. Ligantes:

Un ligante es una especie química capaz de formar algún tipo de interacción electrostática con metales y metaloides denominados átomos centrales para formar compuestos complejos, que también son nombrados como compuestos de coordinación. Los ligantes pueden ser moléculas cargadas (positiva o

negativamente), o bien ser eléctricamente neutros, pero con una densidad electrónica capaz de interactuar con otras especies químicas (Cox, 1995).

Los ligantes pueden poseer en su estructura átomos donadores con uno o más de un par libre de electrones, con capacidad de donar simultáneamente a 2 o más iones metálicos (mononucleares o polinucleares), o bien tener varios átomos donadores que se unen al mismo ión metálico, propiedad que da la siguiente clasificación:

2.3.1. Monodentados: son los iones o moléculas que pueden interactuar con el ion metálico a través de un solo átomo de su estructura.

2.3.2 Polidentados: llamados también agentes quelantes, poseen en su estructura diferentes sitios activos capaces de interactuar con el átomo central, formando así complejos más estables (2-bidentado, 3-tridentado, 4-tetradentado, 5-pentadentado, etc.), ligantes tipo pinza.

#### 2.4. Capacidad de complejación

Livens (2001) describe que existen dos grupos de metales para formar complejos con las SH: el primero que tiende a formar enlaces iónicos conformada por los elementos de las familias I y II A, salvo los contenidos en los primeros 3 periodos, y el segundo grupo tiende a establecer enlaces covalentes, formando complejos de coordinación, lo cual ocurre con los elementos de transición.

Las reacciones de complejación, al ser consideradas ácido-base ya sean duros o blandos, requieren identificar los factores que las afectan, como tamaño, carga, polarizabilidad y naturaleza de los electrones disponibles para interactuar con otros átomos (Hargrove y Thomas, 1982; Gustafsson, 2001).

La formación de complejos estables se ve favorecida con elementos que poseen alta densidad de carga positiva y pueden atraer electrones de los ligantes, donde las interacciones electrostáticas se catalogan como fuerzas de Coulomb, situación desfavorable para los elementos alcalinos, ya que pierden su electropositividad (Hirose et al., 1982).

En los compuestos biológicos existe una gran cantidad de compuestos con número de coordinación 6 y estructura octaédrica. Los elementos de la primera serie de transición pueden tener número de coordinación 4 con diferentes estructuras; algunos ejemplos son: estructuras planas cuando el ligante se trata de H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, o con ligantes más polarizables -como haluros- suelen optar por una geometría tetraédrica (Hiraide, 1992; Huheey, 2007).

El estudio de la disponibilidad de los metales “traza” y tóxicos en función de las condiciones físico-químicas en sistemas acuáticos es importante para la predicción de movilidad, biodisponibilidad e impacto ambiental, por lo que se debe considerar que las SH son agentes complejantes muy importantes que, de acuerdo con lo reportado previamente, presentan una mayor afinidad con los elementos con estado de oxidación II (Town et al., 2009).

#### 2.5. Aplicaciones de compuestos complejos:

La aplicación de reacciones de complejación se da en múltiples áreas del conocimiento -como biología, medicina, química, entre otras-, desde los simples procesos biológicos como la respiración, hasta tratamientos para depurar el organismo de metales o radioterapia, o simplemente en la elaboración de sustancias nuevas para mejorar tecnologías del transporte o información. En sí, los complejos tienen una amplia gama de usos, y una gran cantidad se sintetizan de forma natural, y actualmente en búsqueda de mejores tecnologías el hombre ha contribuido con la síntesis de varios compuestos.

#### 2.6. Elementos químicos objeto de estudio

A continuación se describen las propiedades de cada uno de los elementos objeto de estudio en este trabajo.

La selección de los elementos fue realizada según la serie de Irving- Williams que describe la reactividad de los elementos en la primera serie de transición, donde se aprecia que el elemento más activo es el Cu y el de menor reactividad es el Mn, característica que permite emplear estos elementos para proponer una tendencia entre los elementos de transición (Irving y Williams, 1953). Además se consideraron

el As y Zn por ser elementos expuestos al ambiente por actividades mineras y a que, además, en suelos mexicanos son abundantes (Puga et al., 2006).

En la figura 6 se muestra el diagrama correspondiente a la serie de Irving-Williams, donde se aprecia la reactividad de los elementos de la primera serie de transición con respecto a diferentes ligantes (etilendiamina, ácido amino acético, entre otros), y se puede decir que el elemento más reactivo es el Cu y el menos corresponde al Mn (Irving y Williams, 1953).

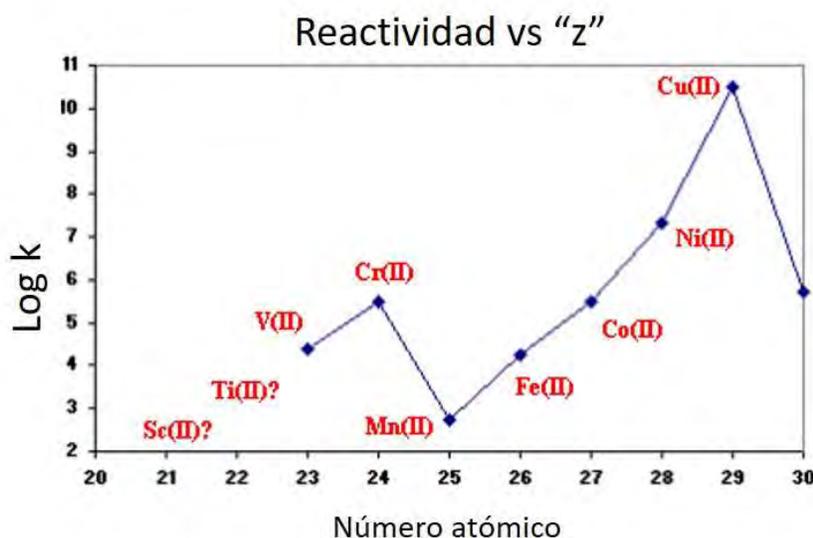


Fig. 6 Diagrama que muestra la tendencia de reactividad correspondiente a la serie Irving - Williams modificado de <http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/IrvWill.html>

### 2.6.1. Arsénico (As):

#### 2.6.1.1. Características generales

Su número atómico es 33, masa atómica de 75 uma y con estados de oxidación -3, 0, +3 y +5. En el ambiente queda expuesto por procesos naturales como meteorización, actividad biológica y emisiones volcánicas, además de actividades antropogénicas como son los procesos industriales (minería, fundición de metales, plaguicidas, conservantes de maderas), tanto en compuestos orgánicos como inorgánicos

#### 2.6.1.2. Toxicidad

Las formas comunes para As en agua son las especies con estados de oxidación 3 y 5, mientras que -3 y 0 son poco frecuentes. La forma más móvil y tóxica corresponde al  $\text{As}^{\text{III}}$  (Armienta y Segovia, 2008). En aguas superficiales la especie más común es el  $\text{As}^{\text{V}}$ . Posee la capacidad de formar complejos con azufre, nitrógeno y carbono orgánico, a diferencia de los metales de transición, que suelen asociarse a elementos como los halógenos (Kalbitz y Wenrich, 1998).

La presencia de As puede producir hidroarsenismo crónico regional endémico, generando alteraciones dermatológicas como melanodermia, leucodermia y queratosis palmo-plantar, evolucionando a diferentes tipos de cáncer (Hughes, 2002; Shi et al., 2004).

La toxicidad del As depende de su estado de oxidación y el tipo de compuesto que forme, por lo que las concentraciones límite de tolerancia del elemento en su forma inorgánica para los organismos se encuentran en el intervalo  $15\text{-}293\text{ mgkg}^{-1}$  y la forma de  $\text{As}^{\text{III}}$  forma enlaces muy fuertes al unirse con azufre procedente de biomoléculas dentro de los organismos (Kalbitz et al.; 2000, Kumar, 2012; Sharma y Sohn, 2009).

#### 2.6.1.3. Reactividad

El As, puede formar oxoaniones dependiendo del pH y potencial redox en el que se encuentre, de tal modo que como catión se encuentra con poca frecuencia en sistemas acuáticos epicontinentales; la especiación de dicho elemento es observable en la figura 7.

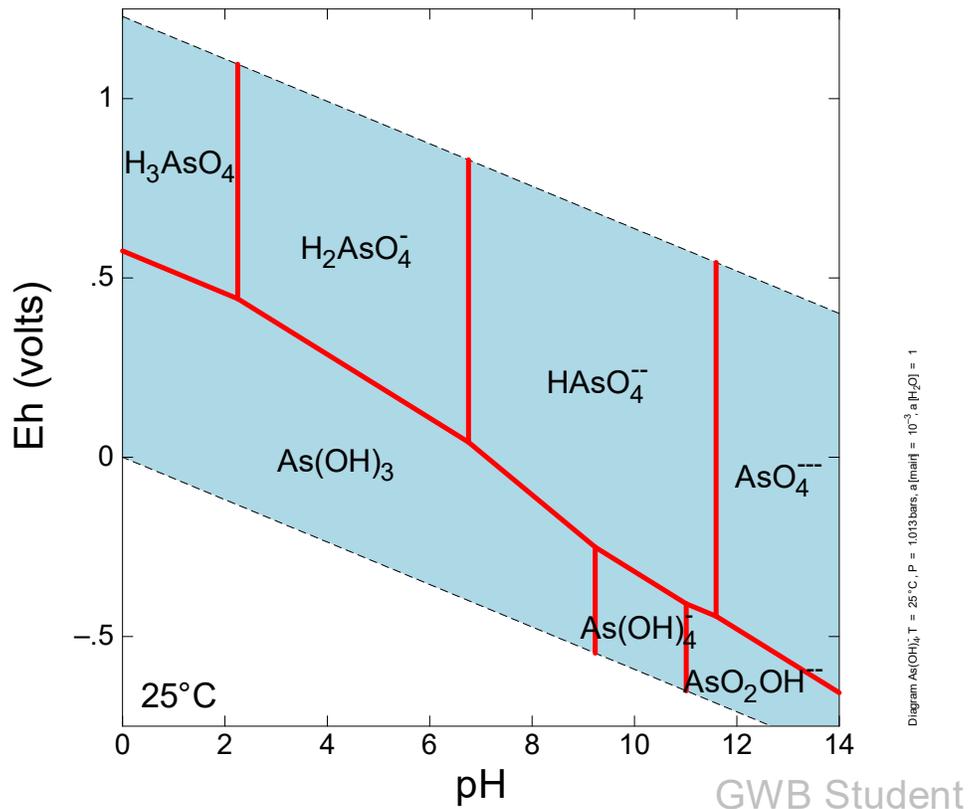


Fig. 7 Diagrama de especiación de As en función del pH y potencial redox en fase acuosa con una concentración de  $10^{-3}$  M realizado con el programa GWB Student.

## 2.6.2 Cobre (Cu)

### 2.6.2.1. Características generales

Es un elemento de transición temprana, que posee baja actividad química, perteneciente al cuarto periodo, su número atómico es 29, con masa atómica de 63.5 uma, sus principales estados de oxidación son 1 y 2, posee una densidad de  $8.96 \text{ g mL}^{-1}$ , un punto de fusión de  $1083^\circ\text{C}$  y de ebullición igual a  $2595^\circ\text{C}$ , se obtiene a partir de sulfuros minerales. Tiene 2 isótopos naturales  $^{63}\text{Cu}$  y  $^{65}\text{Cu}$ , además de 9 isótopos radioactivos.

#### 2.6.2.2 Toxicidad

El Cu es liberado al ambiente por actividades antropogénicas y procesos naturales como tormentas de polvo, descomposición de vegetales, incendios forestales, aerosoles marinos, minería, producción del metal, producción de madera, telas, cuerdas y fertilizantes fosfatados. El Cu es empleado en fungicidas, insecticidas, pigmentos, disoluciones galvanoplásticas, mordentes (sustancias empleadas para fijar la coloración en pieles y telas) y catalizadores, es importante mencionar que tiende a formar enlaces muy fuertes con la materia orgánica (Bryan et al., 2002; Shuman y Cromer, 1979).

Dependiendo de su concentración, el Cu es considerado un elemento “traza” esencial, o bien como tóxico; cuando hay exposición prolongada produce irritaciones en nariz, boca, ojos; puede causar dolor de cabeza y estómago, así como vómito, náuseas, diarreas, además de daños hepáticos y renales. El Cu disminuye la actividad de microorganismos y lombrices, produciendo que la descomposición de materia orgánica en los suelos sea más lenta (Erickson et al., 1996; Gaetke y Kuang, 2003).

#### 2.6.2.3. Reactividad

El Cu presenta una gran capacidad de reacción con diferentes ligantes, tiende a formar complejos planos, con número de coordinación 4 (Xue et al, 1995). En sistemas acuáticos la formación de complejos de Cu está en función de la profundidad y tiene preferencia por ligantes orgánicos tanto en sistemas marinos como limnológicos, por lo que las constantes de formación de complejos con SH suelen ser grandes, y no presentan diferencia significativa entre la afinidad hacia AF y AH (Piccolo y Stevenson, 1982; Van Den Berg, 1984; Shuman y Cromer, 1979).

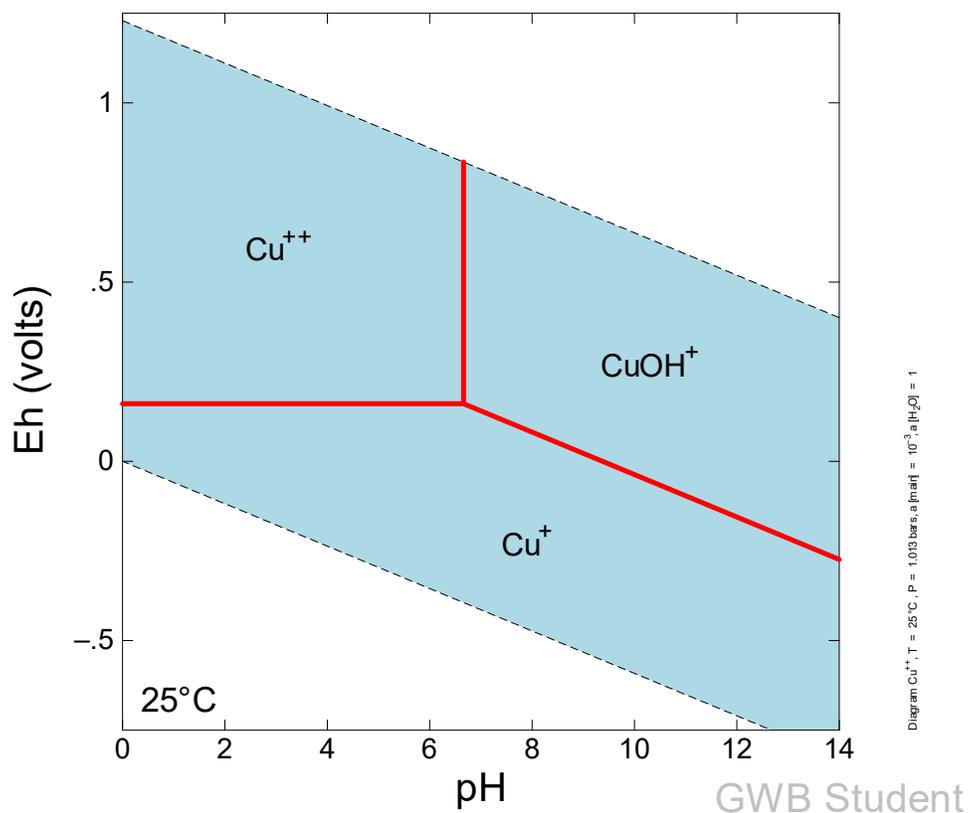


Fig. 8 Diagrama de especiación para el Cu, en función del pH y potencial redox en fase acuosa  $10^{-3}$  M realizado con el programa GWB Student

### 2.6.3. Manganeso (Mn)

#### 2.6.3.1. Características generales

Es un elemento de transición temprana, perteneciente al cuarto periodo, su número atómico es 25, con masa atómica de 55 uma, sus estados de oxidación son 2, 3, 4, 6 y 7, los más comunes 2, 4 y 7, posee una densidad de  $7.43 \text{ g mL}^{-1}$ , con punto de fusión de  $1245^\circ\text{C}$  y de ebullición igual a  $2150^\circ\text{C}$ .

#### 2.6.3.2 Toxicidad

Los óxidos de manganeso existen como sólidos en el suelo y pequeñas partículas en el agua. Se ha determinado que en pH ácido existe deficiencia de Mn en suelos, afectando a plantas y animales, ya que las primeras suelen extraerlo directamente del suelo, por medio de sus raíces y lo llevan hasta las hojas.

En el ambiente se aprecia un incremento debido a actividades industriales y quema de combustibles fósiles, así como por el uso de plaguicidas. El  $MnO_2$  es empleado como agente desecante, catalizador en pinturas y barnices, como decolorante en fabricación de vidrio y pilas secas, el permanganato de potasio se usa como blanqueador de aceites y como agente oxidante en química analítica y preparativa.

El Mn es un elemento “traza” esencial en muy bajas concentraciones, pero tóxico en mayor cantidad. Es componente de 36 enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas. Se encuentra presente en espinacas, té, hierbas, granos, semillas de soja, huevos, aceite de oliva, ejotes y ostras. Entra por torrente sanguíneo, pasa al hígado, páncreas y glándulas endócrinas. Se encuentra presente en las enzimas de activación, es importante en las reacciones de transporte de electrones (fotosíntesis), en la eliminación de radicales superóxido, en la síntesis de metabolitos secundarios y forma parte de la estructura ribosomal. Un exceso puede producir enfermedad de Parkinson, embolia pulmonar y bronquitis, mientras que el déficit produce obesidad, intolerancia a la glucosa, coágulos, problemas de piel, bajos niveles de colesterol, desorden del esqueleto, defectos de nacimiento y síndromes neurológicos (Horiguchi, 1988; Gavin et al., 1999; Davidge y Williams, 2001; Crossgrove y Zheng, 2004).

#### 2.6.3.3. Reactividad

Se oxida con facilidad en el aire y a temperaturas elevadas es muy lábil, reaccionando con halógenos, azufre, nitrógeno, carbono, silicio, fósforo y boro. En los sistemas acuáticos su reactividad es muy importante, ya que su presencia se relaciona con lagos eutróficos. El  $Mn^{III}$  es termodinámicamente inestable en medios acuáticos, por lo que frecuentemente lo encontramos como  $Mn^{II}$  o  $Mn^{IV}$ , que precipitarán o resolubilizarán en función de las condiciones de pH y Eh que se encuentren en un sistema acuático; también dependerá de la zona en la que se encuentran -epilimnion, hipolimnion o si precipitó en el sedimento- (Wetzel, 2001).

Los microorganismos pueden regular el proceso óxido-reducción de algunos metales; además, la oxidación de materia orgánica está acoplada a la reducción de metales.

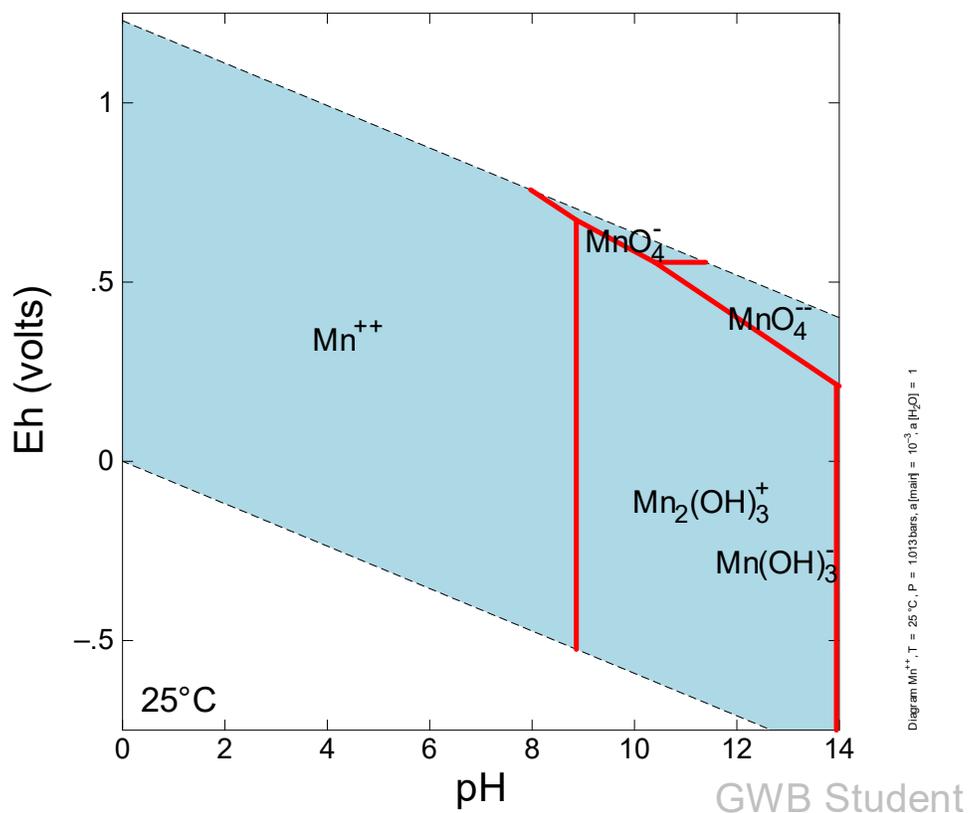


Fig. 9 Diagrama de especiación para el Mn, en función de pH y potencial redox en fase acuosa en concentración  $10^{-3}$  M realizado con el programa GWB Student.

#### 2.6.4. Zinc (Zn):

##### 2.6.4.1. Características generales

Es un elemento de transición temprana, perteneciente al cuarto periodo, es de color gris, maleable y dúctil, su número atómico es 30, con masa atómica de 65.5 uma, su estado de oxidación es 2, posee una densidad de  $7.14 \text{ g mL}^{-1}$ , con punto de fusión de  $419.5 \text{ }^\circ\text{C}$  y de ebullición igual a  $906 \text{ }^\circ\text{C}$ .

##### 2.6.4.2 Toxicidad

El Zn es un nutriente esencial, componente de metaloenzimas que participan en los procesos de síntesis de proteínas y metabolismo de ácidos nucleicos. El Zn se encuentra de forma natural en agua, aire y suelo; sin embargo, fuentes

antropogénicas como actividades industriales y mineras (combustión de carbón, residuos y procesamiento de acero) están incrementando su concentración.

El Zn puede modificar el pH de sistemas acuáticos, en donde los peces pueden absorberlo y acumularlo, para así pasar a la cadena trófica, y afectar a otros organismos como los seres humanos. Además el  $Zn^{II}$  puede solubilizarse en aguas superficiales y suelos lo que significa contaminar agua subterránea a través de la percolación, para las plantas también puede ser perjudicial, debido a que no todas tienen la capacidad de asimilarlo metabólicamente.

#### 2.6.4.3. Reactividad

El Zn se encuentra principalmente enlazado a elementos como O, P, S, Cl, es muy soluble en agua y funciona como ánodo para el recubrimiento de materiales ferrosos.

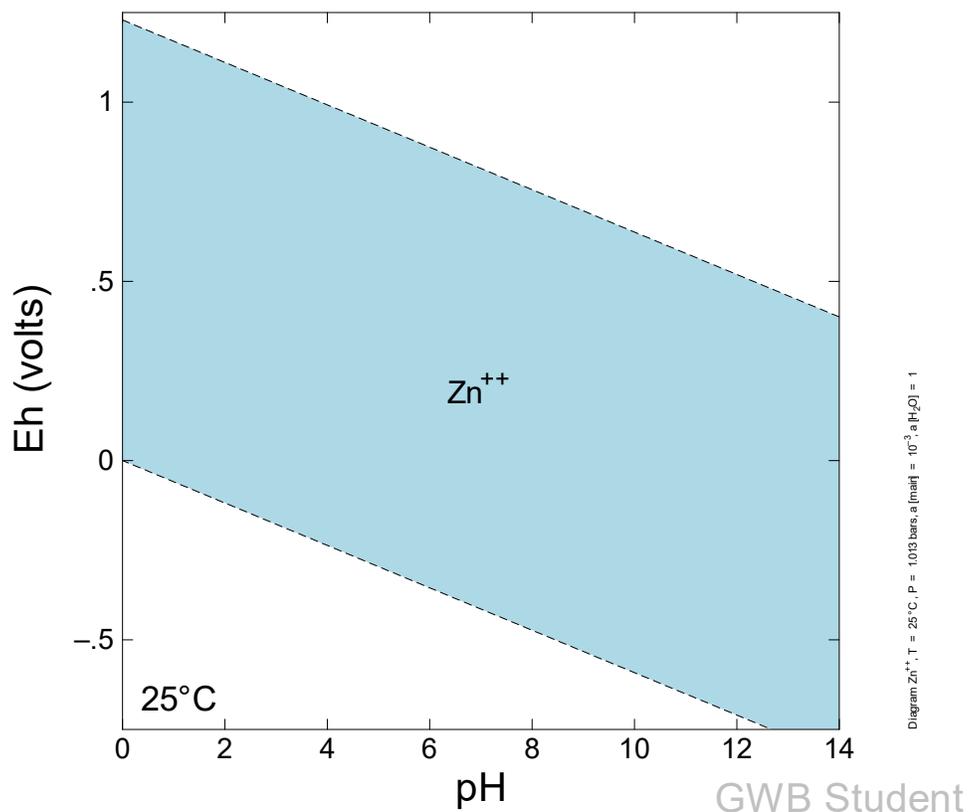


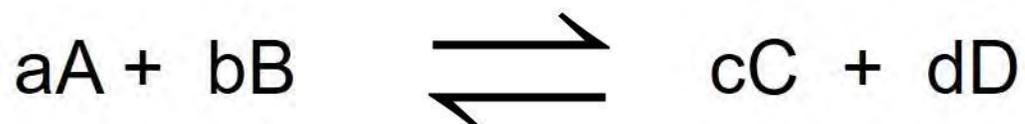
Fig. 10 Diagrama de especiación para el Zn, en función de pH y potencial redox en fase acuosa en concentración  $10^{-3}M$  realizado con el programa GWB Student.

## 2.7. Constantes de equilibrio

### 2.7.1. Definición:

Para describir una reacción es necesario estudiarla cuando se encuentra en equilibrio, es decir; cuando la velocidad de formación de productos es igual a la de reactivos, de tal manera que no se aprecia la variación de sus concentraciones y suelen considerarse como constantes (Witter et al., 1999; Rocha, 2009).

La determinación de una constante de equilibrio requiere que la ecuación que describe la reacción esté balanceada que las concentraciones determinadas sean en el estado de equilibrio, así dada la reacción:



$$K_{eq} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Donde:

$K_{eq}$  = constante de equilibrio

$[A]$  = concentración en el equilibrio del reactivo

$[B]$  = concentración en el equilibrio del reactivo

$[C]$  = concentración en el equilibrio del producto

$[D]$  = concentración en el equilibrio del producto

a, b, c y d son los coeficientes estequiométricos.

Una constante de equilibrio se puede determinar a partir de la termodinámica del calor absorbido o liberado (entalpía), del desorden de reactivos y productos que produce (entropía) y el grado en que la reacción es favorecida o no.

El cambio de entalpía ( $\Delta H$ ) corresponde a la diferencia de energía enlaces formados y rotos en una reacción, lo que se interpreta si absorbe o cede calor, es decir; si es una reacción exotérmica (si  $\Delta H -$ ) o endotérmica (si  $\Delta H +$ ).

La entropía ( $\Delta S$ ) de reacción corresponde a la diferencia de entropía de productos menos la de reactivos, el valor positivo indica que la reacción es favorecida termodinámicamente hablando.

El cambio en la energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) corresponde a la diferencia entre  $\Delta H$  y  $\Delta S$  a temperatura constante, un valor negativo indica que la reacción procede espontáneamente y la ecuación con la que se obtiene es:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

El utilizar la  $\Delta G$  es muy importante porque podemos relacionar la constante de equilibrio con el cambio de energía dentro de una reacción, la relación se expresa mediante la ecuación:

$$K = e(\Delta G^\circ / RT)$$

En donde:

$K$ = constante de equilibrio

$\Delta G^\circ$ = la energía libre de Gibbs en condiciones estándar.

$R$ = constante de gas=8.314 kJ mol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>

$T$ = temperatura en K

### 2.7.2 Constantes condicionales de equilibrio

Las reacciones pueden estar condicionadas por la variedad de especies químicas de un elemento, por lo que es preciso establecer la concentración del elemento o compuesto en función de las condiciones óxido-reductoras y pH, además de otras especies químicas con las que pueda reaccionar. Al condicionar la concentración de los reactivos se pueden determinar las constantes condicionales de equilibrio (Shuman y Cromer, 1979; Hirose et al., 1982; John et al., 1988; Xue et al., 1995). A partir de las constantes condicionales se pueden evaluar diversas interferencias en la reacción y la relación metal-ligante (Davidge et al, 2001).

Para la cuantificación de las constantes condicionales es preciso asumir que se cuenta con dos o más ligantes (Van den Berg, 1984) y que los equilibrios colaterales se pueden generar en diferentes condiciones fisicoquímicas; sin embargo, puede considerarse que los complejos metal-hidróxido no se forman (Van den Bergh, et al., 2001).

El desplazamiento del equilibrio químico está en función de condiciones físico-químicas (Saar y Weber, 1980, Ryan y Weber, 1982) y los principales factores que lo afectan son: temperatura, pH, potencial óxido-reducción, concentración y presión.

### **3. ANTECEDENTES**

Livens (2001) describe que existen dos grupos de metales para formar complejos con las SH, el primero que tiende a formar enlaces iónicos conformada por los elementos de las familias I y II A, salvo con los contenidos en los primeros 3 periodos, y el segundo grupo tiende a formar enlaces covalentes y complejos de coordinación, lo cual ocurre con los elementos de transición. Además que las SH van a presentar una mayor afinidad con los elementos que tengan un estado de oxidación de II.

Van den Bergh et al. (2001), indican que la formación de complejos entre SH y metales está relacionada con las características termodinámicas y cinéticas, además encontraron que a un pH=6, en ambiente estabilizado con EDTA, se forman complejos muy estables con Al y Fe.

Gracias a la gran capacidad de quelación que presentan las SH se ha comprobado la estabilidad de los complejos con elementos como Cd(II), Cu(II), Cr(III) y Hg(II), atribuida a los grupos funcionales (Clemente y Bernal, 2006). La estabilidad de los complejos de Cu y en general de los metales está en función de pH y fuerza iónica.

El pH puede modificar la conformación de los AH generando la floculación o agregación, esta diferencia se observa principalmente entre suelos ácidos, pH=3.4, y calcáreos, pH=7.7 (Clemente y Bernal, 2006).

Otros trabajos registran que a pH de 3.5 la reactividad entre SH y algunos metales sigue el orden: Cu>Fe>Pb>Ni>Co>Ca>Cd>Zn>Mn>Mg (Pandey et al., 2000). A pH=2.4 queda como: Hg>Fe>Pb>Cu=Al>Ni>Cr=Zn=Cd=Co=Mn y a pH=5.8 la secuencia es Hg=Fe=Pb=Al=Cr=Cu>Cd>Zn>Ni>Co>Mn (Liu y González, 1999).

También registran que la presencia de Ca en el medio de reacción crea una interferencia, inhibiendo la adsorción de los metales traza por las SH de forma más efectiva que el Mg (Liu y González, 1998).

Para monitorear la formación de complejos se han aplicado métodos de electrodo de ión selectivo y voltamperométricos, mostrando los segundos una mayor complejidad para ser aplicados (Liu y González, 1999).

#### 4. Características hidrogeológicas de los sitios origen de las muestras

Por la naturaleza de este trabajo se cuenta con muestras de 3 sitios con características muy diferentes (2 ríos brasileños y 1 un lago mexicano) Los Ríos Sorocaba e Itapanhaú y el Lago Xochimilco. Las características propias de cada sitio se describen en los siguientes puntos:

##### 4.1. Ríos Itapanhaú y Sorocaba:

Río Itapanhaú se encuentra en el noreste del Estado de Sao Paulo en las coordenadas 23°50'23" S y 46°08'21" W, desemboca en el Estuario Bertioga, está dentro del Grupo Itararé conformado principalmente por rocas metamórficas, depósitos aluviales. La litología está dominada por migmatitas, granulitas,

diamictita, esquistos, cuarcitas entre otras (Souza et al,2008; Carta hidrogeológica Brasileña).

Los minerales silícicos proporcionan al ambiente condiciones para tener una cuenca con el pH ácido, situación completamente observable en las muestras que registran en los ríos con valores entre 4 y 5.

Río Sorocaba: mide 227 km, localizado en el sureste del Estado de Sao Paulo, entre los paralelos 23 y 24 S y meridianos 47 y 48 W, cubre un área de 5,269 km<sup>2</sup> que incluye 18 municipios con 1.2 millones de habitantes. Se encuentra entre 2 unidades geomorfológicas, río arriba en la meseta del Atlántico, la cabecera y cuerpo en la meseta Ibiúna/San Roque. Río arriba presenta una altitud entre los 800 y 1000 msnm, y la litología está representada por migmatitas y granito.

Río abajo está situado en la depresión morfológica del Río Tieté medio, con una altitud entre 500 y 600 msnm con pendientes de entre 5 y 10°. La litología está dada por areniscas. La cuenca de drenaje es dendrítica con susceptibilidad para erosión (Martins et al, 2012).

Dentro de los minerales encontrados en los sedimentos finos están cuarzo, caolinita y magnetita, y en la fracción gruesa hay cuarzo, feldespato potásico y plagioclasas (Martins et al, 2012).

El Río Itapanhaú es considerado un sistema prístino, en el cual se pueden realizar actividades turísticas, aunque próximo a él se desarrolla la actividad minera.

El Río Sorocaba fue empleado mucho tiempo como canal de desechos industriales, aunque en los últimos años se ha realizado una campaña para su saneamiento, situación que todavía no se logra del todo. La vegetación presente en la cuenca del Río Sorocaba se caracteriza por bosques, campos de gramíneas, prados de la sabana y humedales, además de áreas ocupadas por agricultura y zonas urbanas, la cabecera es la mejor preservada con el 60% de la vegetación original, mientras el cuerpo concentra las áreas de agricultura y urbana.

Tabla 1. Los estudios de los ríos y lago fuente de las sustancias húmicas objeto de esta investigación muestran la información química según de Oliveira et al (2015) para los Ríos Sorocaba e Itapanhaú.

Parámetro	Río Sorocaba	Río Itapanhaú
Ph	5.0	4.5
T (°C)	23	21
Cond. ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )	135	46
OD ( $\text{mgL}^{-1}$ )	4.1	4.2
Al ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	16	143
Cr ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	3.44	3.10
Fe ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	18	229
Zn ( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	<LOD	72
TCO ( $\text{mgL}^{-1}$ )	18.9	15.9

(OD= Oxígeno disuelto, Cond= Conductividad, TCO= Carbono Orgánico Total, LOD= Menor al Límite de Detección)

A pesar de que la litología en los ríos brasileños es muy parecida, el clima, tipo de vegetación y actividades antropogénicas desarrolladas condicionan plenamente la química de los sistemas acuáticos.



Fig. 11. Imagen donde se muestra la ubicación dentro del territorio brasileño e imágenes representativas de los Ríos Itapanhaú y Sorocaba, Tomado de Google Earth.

4.2 Lago Xochimilco: el sistema lacustre “Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco” se ubica fisiográficamente en la provincia del Eje Neovolcánico, Subprovincia de Lagos y Volcanes de Anáhuac, en el extremo sur de la Cuenca de México. Se originó al final del período terciario superior y principios del cuaternario; durante esta fase la parte sur del Valle fue obstruida por la formación de la Sierra del Chichinautzin, surgiendo la cuenca endorreica de México, y a partir de ello, el depósito de materiales de origen volcánico, aluvial y orgánico, estos últimos predominantes en el área, y origen de la planicie de la cuenca y la llanura lacustre. Tiene 3 unidades: llanura lacustre, llanura lacustre-salina y llanura aluvial, mientras que su área de influencia hacia la parte sur se clasifica como pie de monte o zona de “transición”. Por su topografía, la zona se ubica en un terreno plano de origen lacustre correspondiente al antiguo vaso del lago de Xochimilco, cuya pendiente varía entre 0-5%. Al sur, se localiza el área montañosa formada por los cerros Xochitepec y Cantil, así como los volcanes Teoca, Zompole y Teutli (FIR, 2004).

Para el caso del Lago de Xochimilco los sedimentos corresponden a la litología de la zona (basaltos y andesitas principalmente), ya que es una cuenca endorreica, cuyo afluente actual son las descargas de la planta de tratamiento del Cerro de la Estrella, además de sedimentos biogénicos, debido al desarrollo de actividades como la agricultura, presencia de desechos domésticos y lirios (PAOT, 2010).

Tabla 2 Análisis físico-químicos realizados a muestras de agua del Lago de Xochimilco en el laboratorio de Química Analítica del Instituto de Geofísica.

Parámetro	Lago de Xochimilco
Ph	6.8
Cond. ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ )	947
$\text{HCO}_3^-$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	370
$\text{SO}_4^{2-}$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	95
$\text{Cl}^-$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	75
$\text{F}^-$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	0.7
$\text{Na}^+$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	112
$\text{K}^+$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	19
$\text{Ca}^{2+}$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	38
$\text{Mg}^{2+}$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	35
B ( $\text{mgL}^{-1}$ )	0.7
$\text{SiO}_2$ ( $\text{mgL}^{-1}$ )	54
Fe ( $\text{mgL}^{-1}$ )	0.1

Las variaciones de la composición química se pueden atribuir a la diferencia del uso de suelo, y del propio sistema acuático,

La composición química del humedal “lago” de Xochimilco es muy variable dependiendo de la zona (López-López et al, 2006) ya que se ha visto reducido a canales, en donde existe un sistema de chinampería, descargas urbanas teóricamente con un tratamiento previo y una zona turística.

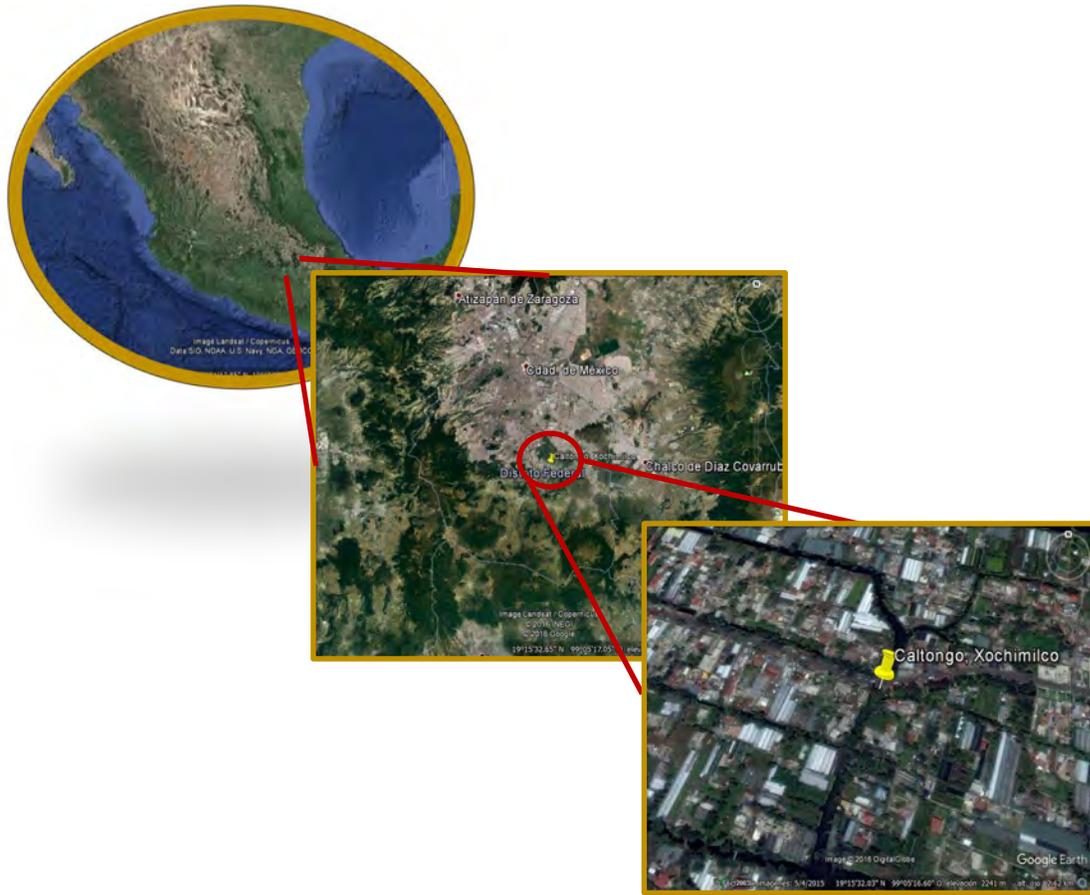


Fig. 12 Imagen de la ubicación dentro del territorio mexicano e imagen representativa del Lago de Xochimilco, tomado de Google Earth.

## 5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- En condiciones experimentales de pH similares a las de un sistema acuático natural ¿Cuál es la capacidad de complejación de las SHA de Xochimilco (SHAX), Itapanhaú (SHAI) y Sorocaba (SHAS) frente al As, Cu, Mn y Zn?
- ¿Qué complejos se ven favorecidos en su formación As-SHA, Cu-SHA, Mn-SHA o Zn-SHA en las condiciones físico-químicas de trabajo?
- ¿Cómo afecta el ambiente de formación de las SHA los sitios activos para la formación de complejos con As, Cu, Mn y Zn?
- ¿Cuál es la consecuencia de la variación de condiciones de pH para la movilidad de As, Cu, Mn y Zn al reaccionar con SHA?

## 6. HIPÓTESIS

- Se espera que el elemento favorecido para formar complejos con las SHA sea el Cu.
- La capacidad de complejación de las SHA variará, según el pH de trabajo, por el equilibrio ácido-base de los sitios activos.
- A pesar de que las SHA tienen los mismos precursores de formación en los diferentes sitios de muestreo, las concentraciones y condiciones de formación varían, por lo que suponemos una modificación al polimerizar que provoca un cambio en los sitios activos y, por tanto, alteración en la capacidad de reacción.
- Las condiciones físico-químicas no sólo repercuten en la disponibilidad de las SHA, sino en la especiación de los elementos, por lo que la reacción de complejación será afectada y esto modificará la movilidad de los elementos.

## 7. OBJETIVOS

### Objetivo general

Estudiar la interacción de sustancias húmicas acuáticas de diferentes regiones geográficas con respecto de As, Cu, Mn y Zn, simulando condiciones físicoquímicas de pH de sistemas acuáticos epicontinentales.

### 7.1. Objetivos específicos

- Cuantificar la capacidad de complejación de las SHA respecto a As, Cu, Mn y Zn en condiciones físico-químicas de pH experimentales similares a las de sistemas acuáticos naturales.
- Calcular constantes de equilibrio de formación de complejos para los diferentes elementos y reacciones.
- Establecer las diferencias en la capacidad de complejación de las SHA procedentes de tres sitios (Río Sorocaba, Río Itapanhaú y Lago Xochimilco) con características físico-químicas diferentes.
- Analizar hacia cuál elemento y estado de oxidación As(III), Cu(II), Mn(II) o Zn(II) presentan mayor afinidad las SHA para formar complejos bajo diferentes condiciones físico-químicas.

## 8. METODOLOGÍA

### 8.1. Experimentación

La parte experimental de este trabajo de investigación se desarrolló a partir de los reactivos que se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Características del agua desionizada empleada para el desarrollo experimental.

Parámetro	pH	Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ )	Alcalinidad $\text{HCO}_3^-$	Dureza de $\text{Mg}^{2+}$
Agua desionizada	5.6	15	$3.0 \text{ mgL}^{-1}$	$0.9 \text{ mgL}^{-1}$

Tabla 4. Características de los reactivos empleados para el desarrollo experimental del proyecto.

Elemento	Compuesto	PM ( $\text{gmol}^{-1}$ )	Tipo de reactivo	Marca
As	$\text{As}_2\text{O}_3$	198.0	GR	Merck
Cu	$\text{CuSO}_4$	159.5	GR	Merck
Cu	$\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	170.5	GR	Merck
Mn	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	198.0	GR	Baker
Zn	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287.5	GR	Merck
$\text{HCO}_3^-$	$\text{NaHCO}_3$	84.0	GR	Baker
$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	106.0	GR	Baker
HCl	HCl	36.5	GR	Baker

Las reacciones se realizaron considerando la cinética determinada en trabajos previos (Macías-Felipe, 2013), con un tiempo de reacción que no supera la media hora para todos los casos. A partir de esta base, el procedimiento implementado se desarrolló de la siguiente forma: bajo temperatura y presión de la Ciudad de México en un sistema abierto con agitación constante durante un periodo de 1 h se colocaron los reactivos (disolución de los elementos, de SHA y buffer), después se empleó el equipo de ultrafiltración que tarda aproximadamente 3 h para filtrar la muestra y separar los complejos formados de los iones libres o unidos a ligantes inorgánicos. Estos últimos, por las características de la membrana utilizada (membrana de acetato de celulosa regenerada con tamaño de poro de 1 kDa), no son retenidos y pasan con las aguas madres.

Para el proceso se requirió hacer la reacción entre cada elemento y las diferentes SHA, a diferentes condiciones de pH, además de realizarse por triplicado.

Tabla 5. Cantidades requeridas por reactivo para el desarrollo experimental.

Reactivo	Concentración (mgL <sup>-1</sup> )	Concentración (M)	Vol (mL)
As	200	-----	3
Cu	500	-----	5
Mn	500	-----	5
Zn	500	-----	5
SHAS	100	-----	40
SHAI	100	-----	40
SHAX	100	-----	40
Buffer de pH (4.5, 6, 7.5 ó 9)	-----	1	5

Las disoluciones amortiguadoras se prepararon a partir de la serie de carbonato-bicarbonato-ácido carbónico, empleando la ecuación de Henderson-Hasselbalch

(Harris, 2007) (ecuación 1) y las cantidades para cada reactivo se muestran en la Tabla 4

$$pH = pka + \log\left(\frac{B}{A}\right)$$

Ec. 1

pH= valor de pH del que se desea realizar la disolución amortiguadora.

pka= valor de log de la constante de acidez para el par ácido-base a usar.

B= concentración molar de la base conjugada.

A= concentración molar del ácido débil.

Tabla 6. Cantidad en mg de los reactivos necesarios para la elaboración de las disoluciones amortiguadoras, en concentración 1 M, cabe mencionar que para la obtención del ácido carbónico fue necesario realizar la reacción entre bicarbonato de sodio y ácido clorhídrico.

pH=9	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> =0.53 g
	NaHCO <sub>3</sub> =7.98 g
pH=7.5	NaHCO <sub>3</sub> =7.896 g
	H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ← NaHCO <sub>3</sub> +HCl =0.504 g NaHCO <sub>3</sub> y HCl concentrado.
pH=6	NaHCO <sub>3</sub> =2.772 g
	H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ← NaHCO <sub>3</sub> +HCl =5.628 g NaHCO <sub>3</sub> y HCl concentrado.
pH=4.5	NaHCO <sub>3</sub> =0.168 g
	H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ← NaHCO <sub>3</sub> +HCl =8.232 g NaHCO <sub>3</sub> y HCl concentrado.

En la figura 13 se puede observar el procedimiento general que se llevó a cabo para cada una de las reacciones.

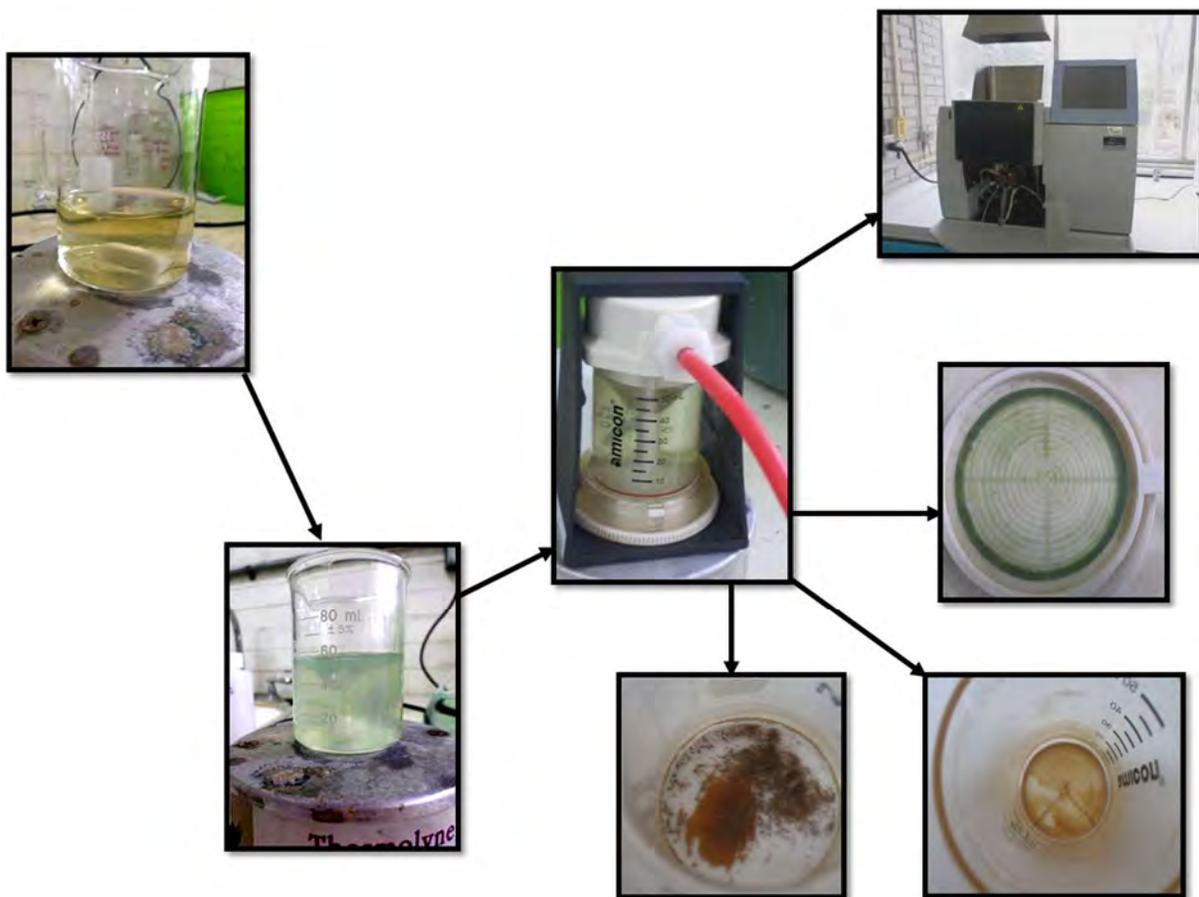


Fig. 13. Esquema mostrando los pasos de la reacción, en donde primero se adicionan los reactivos, para proceder a la agitación durante 1 h; después se realizó el proceso de ultrafiltración; el metal libre se cuantificó en las aguas madres, y finalmente se muestran los complejos aislados.

La técnica de ultrafiltración (UF), debido al tamaño de poro empleado, permite realizar la separación del complejo formado del metal libre o bien enlazado a iones inorgánicos. La UF requiere aplicar presión para lograr el flujo tangencial, la cual se ejerce por medio de un gas inerte, en este caso el gas empleado fue nitrógeno de alta pureza (Infra).

## 8.2 Cuantificación

La cuantificación del metal libre post-reacción en las aguas madres se realizó mediante la técnica de espectroscopía de absorción atómica, la cual a continuación se describe brevemente en las 2 modalidades que se emplearon.

### 8.2.1. Espectroscopía de absorción atómica (EAA)

La EAA es una técnica aplicada para la determinación de metales en concentraciones del orden de  $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$  (González et al., 2004).

Para los elementos Cu, Mn y Zn se utilizó la técnica de manera directa con flama empleando el equipo Perkin Elmer AAnalyst200; para lo cual, se cuenta con el intervalo de respuesta lineal que permite realizar la curva de calibración para obtener una buena cuantificación, así como el límite de detección presentado en la Tabla 5.

Para el análisis de As, se precisa realizar la reacción a través de una previa reducción con yoduro de potasio en medio ácido, para después inyectar la muestra y formar el hidruro de arsénico(III) (Arsina) al reaccionar con ácido clorhídrico y borohidruro de sodio y de este modo ser cuantificado. Dicho proceso se llevó a cabo con el equipo Perkin Elmer FIAS100 acoplado a Perkin Elmer AAnalyst100. En la Tabla 5 se puede observar la información necesaria para la cuantificación.

Tabla 7. Información necesaria de la curva de calibración y límite de detección, así como coeficiente de correlación obtenido para cada elemento.

Elemento	LD ( $\text{mgL}^{-1}$ )	Concentraciones curva de calibración ( $\text{mgL}^{-1}$ )	$R^2$
As	0.001	0.0025, 0.005, 0.0075 y 0.01	0.9733
Cu	0.25	0.5, 1.5, 3 y 4	0.9999
Mn	0.10	0.2, 0.6, 1.2 y 2.5	0.9989
Zn	0.05	0.1, 0.3, 0.6 y 1	0.9998

### 8.3. Caracterización

#### 8.3.1. Infrarrojo (IR):

La espectroscopía infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y, posiblemente, del acoplamiento vibracional.

Tabla 8. Región en la zona del infrarrojo, que permite la identificación de los grupos funcionales de una sustancia húmica (Abbt-Braun et al., 2004).

Grupo funcional	Señal (cm <sup>-1</sup> )
COOH, OH, NH	3100-3600
Carbonilo	1500-1790
Alifáticos	2800-3000
Deformación de NH	1520-1540
Deformación alifática	1450

La obtención de los espectros de IR de las muestras se desarrolló en el laboratorio de Espectroscopía Infrarroja de la USAII (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria) por el método de reflectancia por ATR en el equipo FTIR SPECTRUM 400 marca Perkin Elmer.

#### 8.3.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB):

Como parte de la caracterización de los complejos formados se empleó la MEB, que nos proporciona información morfológica de los compuestos, además de identificar dentro de su composición la presencia de elementos con masa atómica superior al Ne; de esta forma se apreció la formación del complejo con cada uno de los metales que reaccionaron. El equipo empleado fue el TM-1000 HITACHI SEM con el

detector TM-1000 Processor TMX-stream, del Laboratorio de Petrografía del Instituto de Geofísica.

8.3.3. Espectroscopía de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X (XPS): técnica empleada para cuantificar, y determinar la composición de un sólido en su superficie o bien de polvos, además de establecer las posibles interacciones y estados de oxidación para cada elemento encontrado a partir de la energía de los diferentes orbitales ocupados o vacíos. En la Tabla 9 se indican los valores de energía de enlace principales para cada elemento importante para esta investigación. El equipo empleado fue el sistema PHI VersaProbe II, el sistema trabaja con haz de rayos-X Al-Ka monocromático y cuyo tamaño de spot puede ser de 9  $\mu\text{m}$  a 200  $\mu\text{m}$ . Este haz de rayos-X, a diferencia de los sistemas convencionales, se produce por el escaneo de un haz de alto voltaje (15kV) sobre un ánodo de aluminio, generando a su vez un haz monocromado que escanea la superficie de la muestra, el análisis se desarrolló en el LINAN-IPICYT (Laboratorio Nacional de Investigación en Nanociencias y Nanotecnología del Instituto Potosino de Investigación en Ciencia y Tecnología).

Tabla 9. Indica las bandas con las que se puede identificar cada elemento, para los no metales el intervalo en el que pueden encontrarse dependiendo del enlace en el que participen.

Elemento	Señal (eV)
C	284-289
O	398-405
N	529-535
Cu	933.6 ( $\Delta$ 19.9)
Mn	642.1 ( $\Delta$ 11.7)
Zn	1021.8 ( $\Delta$ 22.97)

## 8.4 Determinación de constantes de equilibrio

### 8.4.1. Teórica

Cálculo de constantes de estabilidad ( $K_e$ ).

La determinación de la constante de estabilidad se propone a partir de la constante de distribución del metal, la cual corresponde a la relación entre la concentración del elemento que se encuentra libre y el complejoado con las sustancias húmicas, según lo descrito por Pandey et al. (2000) y Ninfant'eva et al. (1999). Se determina la relación entre el elemento complejoado y el elemento presente de forma libre, considerando que el metal se agrega en exceso y por lo tanto la concentración al equilibrio de las sustancias húmicas es despreciable (Ninfant'eva et al, 2001).

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

Ec. 3

K= constante de complejación

M=concentración total del metal libre al equilibrio

L=concentración del ligante o del ligante en equilibrio

ML= concentración del complejo

La reacción a considerar para la determinación de las constantes se muestra en la ecuación 4.



Ec.4

## 9. RESULTADOS

### 9.1 Descripción de los complejos formados

En las reacciones efectuadas se observa que los complejos formados no se producen exclusivamente con el metal libre, sino también con los cationes generados a través de las reacciones secundarias; es necesario identificar la especiación química bajo las condiciones físico-químicas experimentales para los elementos objeto de estudio de este trabajo, lo cual se realizó con la ayuda del programa GWB y se muestran en la figura 14.

En los diagramas se puede apreciar que el As es un elemento que principalmente va a formar oxianiones bajo las condiciones experimentales de reacción. Entre los compuestos formados encontramos hidróxido de arsénico(III) el cual se considera que se forma en ambientes reducidos y ácidos; además, de ser la forma más tóxica y difícil de eliminar (Rangel et al., 2014), adicional a los productos de disociación de  $\text{As}^{\text{V}}$  ( $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  y  $\text{HAsO}_4^{2-}$ ).

Bajo las condiciones de reacción, el Cu presenta iones de  $\text{Cu}^{2+}$  principalmente, y cuando incrementa el pH tiende a formar los hidróxidos correspondientes. Aunque forma cationes, situación que le permite continuar en disolución y reaccionar, también lo podemos encontrar como  $\text{Cu}^+$ ; sin embargo, por las condiciones óxido-reductoras será más fácil encontrarlo con estado de oxidación (II), que es la forma más común en el ambiente.

Por sus características, el Zn se oxida fácilmente a  $\text{Zn}^{2+}$ ; bajo esta especie y según el diagrama de especiación, es la forma en que lo tendremos disponible en las condiciones de reacción.

Finalmente, encontramos el Mn con un estado de oxidación de (II), o por encima de un pH de 8.5 y bajo condiciones óxido-reductoras, lo encontramos como catión, formando hidróxidos e incluso compuestos organometálicos diméricos.

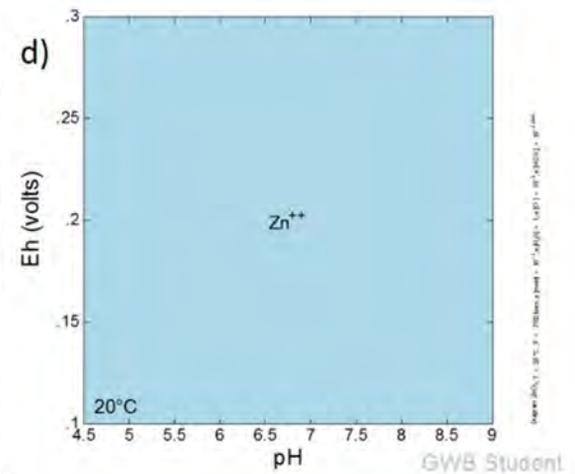
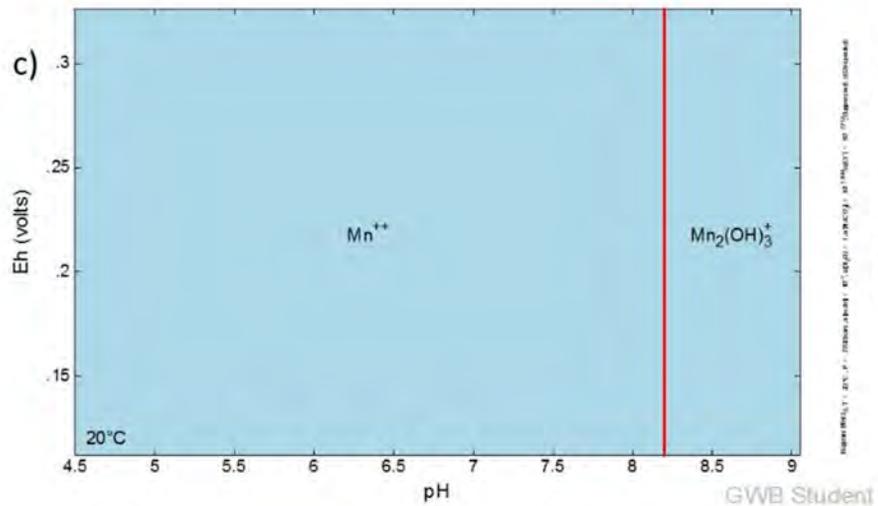
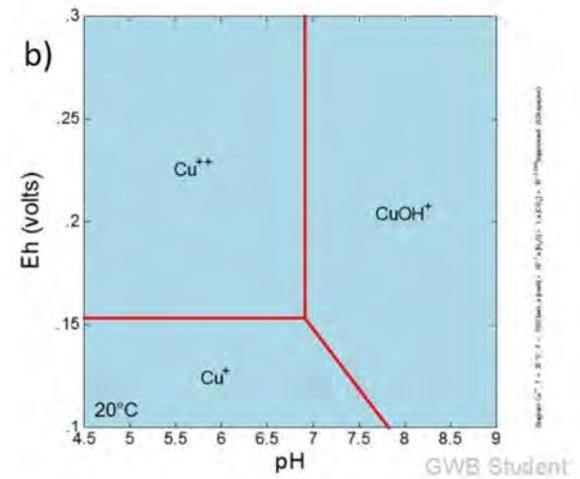
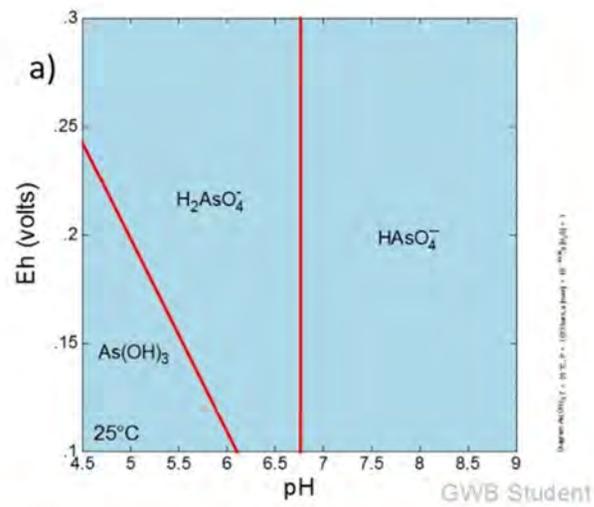


Fig. 14. Diagramas de especiación para las condiciones experimentales de reacción para a) Arsénico b) Cobre c) Manganeso y d) Zinc.

Antes de la reacción, las disoluciones presentaban las siguientes tonalidades a) de SHA café claro, b) de sulfato de cobre azul, c) de cloruro manganoso rosa, d) de óxido de arsénico (III) incolora y e) de cloruro de zinc incolora, lo que permitió identificar que la reacción procedió debido al cambio de color en las disoluciones como se describe a continuación.

Para el caso del As no se observó ninguna alteración en el medio de reacción, justificado por la poca o nula cuantitatividad de la reacción. En el caso del Cu, las disoluciones mostraron un cambio aproximadamente al minuto 15, cuando la disolución se tornó lechosa en tonos verdosos. Para la reacción de Mn las tonalidades tomadas por la disolución después de la reacción fueron lechosas marrón claro y el cambio de coloración fue aproximadamente en el minuto 10. Para el Zn, la reacción se tornó lechosa en tono blanco, pero en este caso aproximadamente al minuto 30.

Para descartar que los cambios de coloración en las reacciones se debiera a la interacción entre SHA y las disoluciones amortiguadoras, se simuló la reacción sin adicionar disolución metálica, la cual no mostró ningún cambio; además, al usar como medio de reacción agua desionizada con el metal y el buffer, tampoco se observó ninguna modificación, lo que ya indica que la reacción que se lleva a cabo sí es entre el metal y las SHA.

El aislamiento de los productos nos permite describirlos y decir que los complejos de Cu parecen pequeñas hojuelas de color verde; los de Mn toman un color café, y poco a poco la consistencia es como de un talco, y finalmente los de Zn son hojuelas de color negro como las podemos ver en la figura 15.

a)



b)



c)



Fig. 15 a) Imagen del complejo SHA-Cu con el color verde típico de compuestos de cobre. b) Imagen del complejo de SHA-Mn se aprecia el color marrón, correspondiente a compuestos de Mn con estado de oxidación (II). c) Imagen del complejo SHA-Zn.

## 9.2 Constantes de equilibrio

Las constantes de equilibrio se determinaron partiendo de las premisas “que por diferencia se puede determinar el metal que reaccionó para formar el complejo, y que el reactivo limitante en todos los casos son las SHA”, además que sólo se determina la constante global condicional para cada una de las reacciones bajo los diferentes valores de pH, a partir de las ecuaciones descritas en la metodología.

Los valores de las constantes bajo función logarítmica se pueden ver en los gráficos de la Figura 16. Se puede observar que el As presenta muy baja cuantitatividad con valores logarítmicos que se encuentran en el intervalo de -1.03 a 0.99, con un comportamiento inverso al crecimiento de pH. El Cu encuentra sus valores en el intervalo 1.88 a 2.82, de la misma forma decreciendo conforme se incrementa el pH. El Mn muestra valores en un intervalo de 0.08 a 4.82, pero en este caso crece junto con el pH y el Zn presenta valores en el intervalo -0.75 a 4.03, sólo que no muestra una tendencia como en los otros elementos, excepto que a pH=4.5 casi no se produce la reacción de complejación.

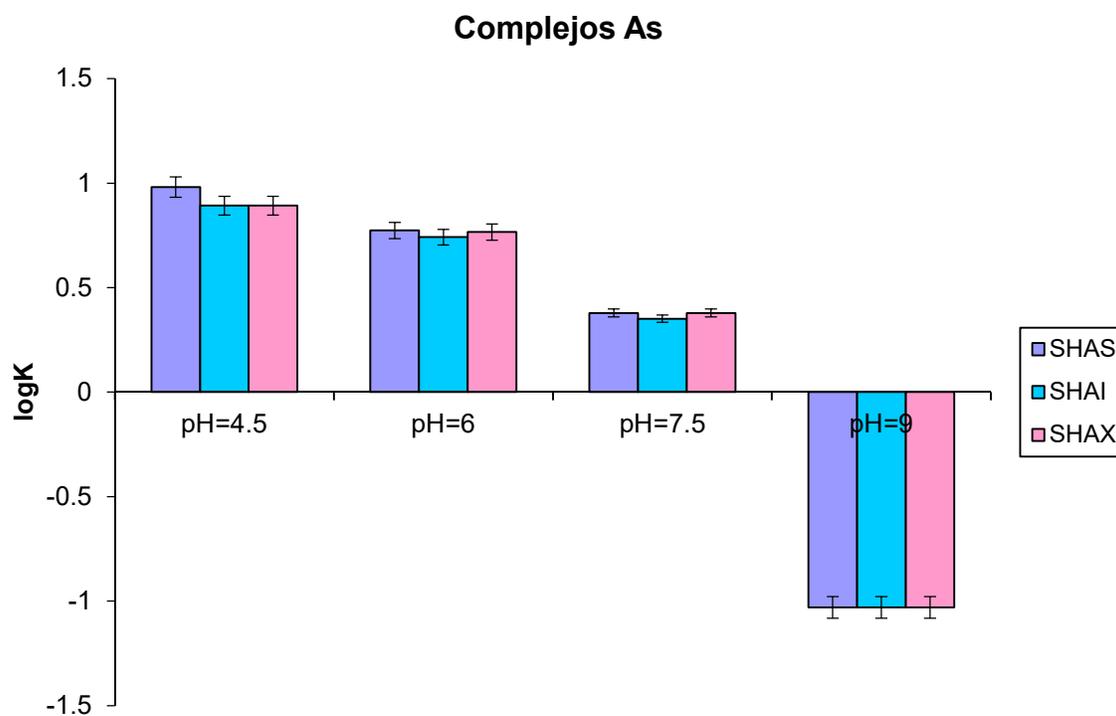


Fig. 16. Gráfico del log de la constante de complejación en función del pH determinados para el As.

### Complejos Cu

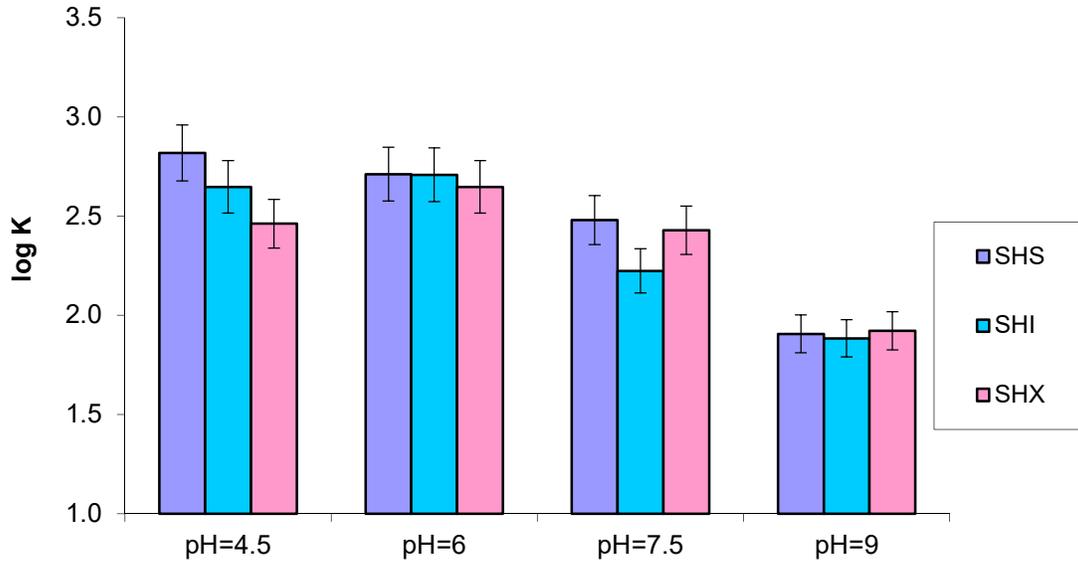


Fig. 17. Gráfico del logaritmo de la constante de complejación en función del pH determinados para el Cu.

### Complejos Mn

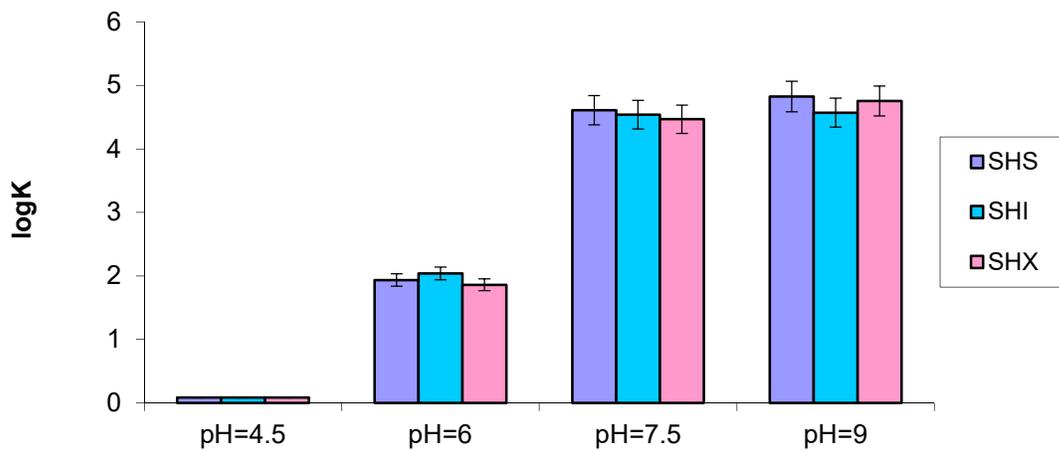


Fig. 18. Gráfico del logaritmo de la constante de complejación en función del pH determinados para el Mn.

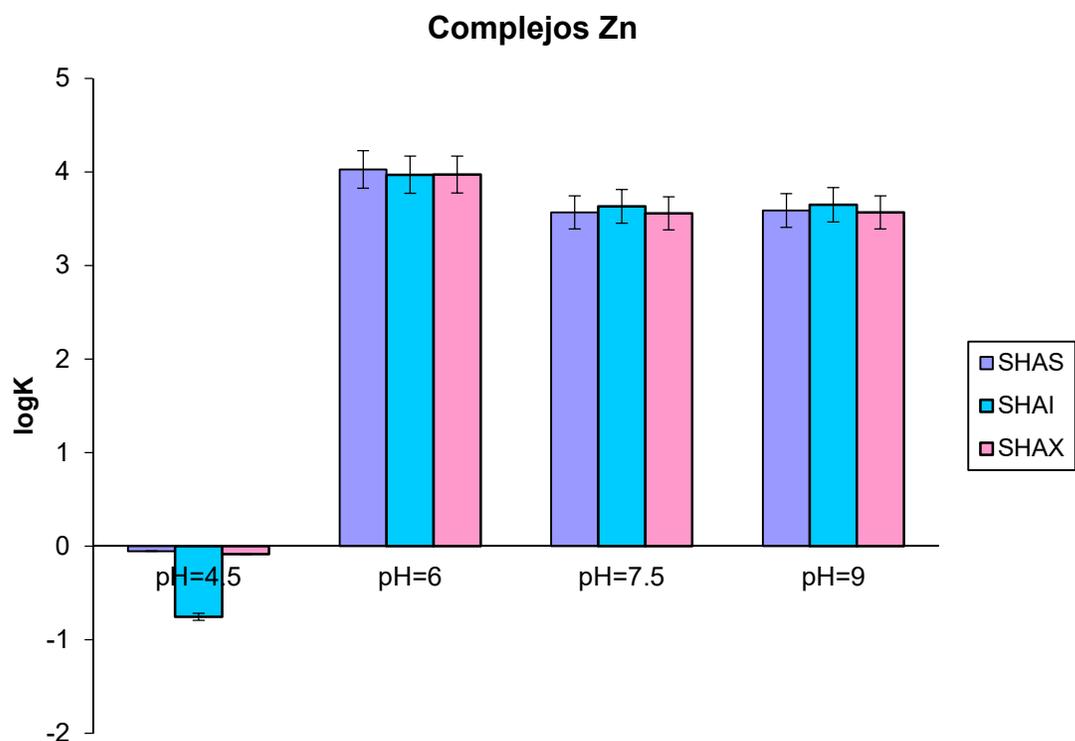


Fig. 19. Gráfico del logaritmo de la constante de complejación en función del pH determinados para Zn.

La capacidad de complejación de las SHA se muestra a partir de la razón entre la cantidad de metal que reaccionó (mmol) y la cantidad adicionada de ligante (g), de lo anterior cual obtenemos los valores registrados en los gráficos de las figuras 20, 21, 22 y 23.

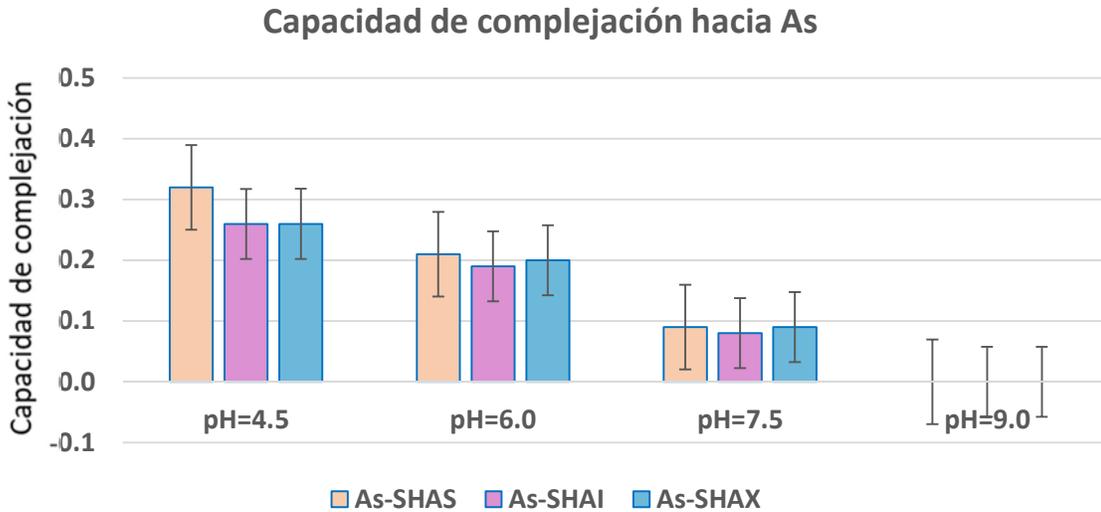


Fig. 20. Gráfico donde se muestra la capacidad de complejación de las SHA con respecto de As en función de las condiciones de pH.

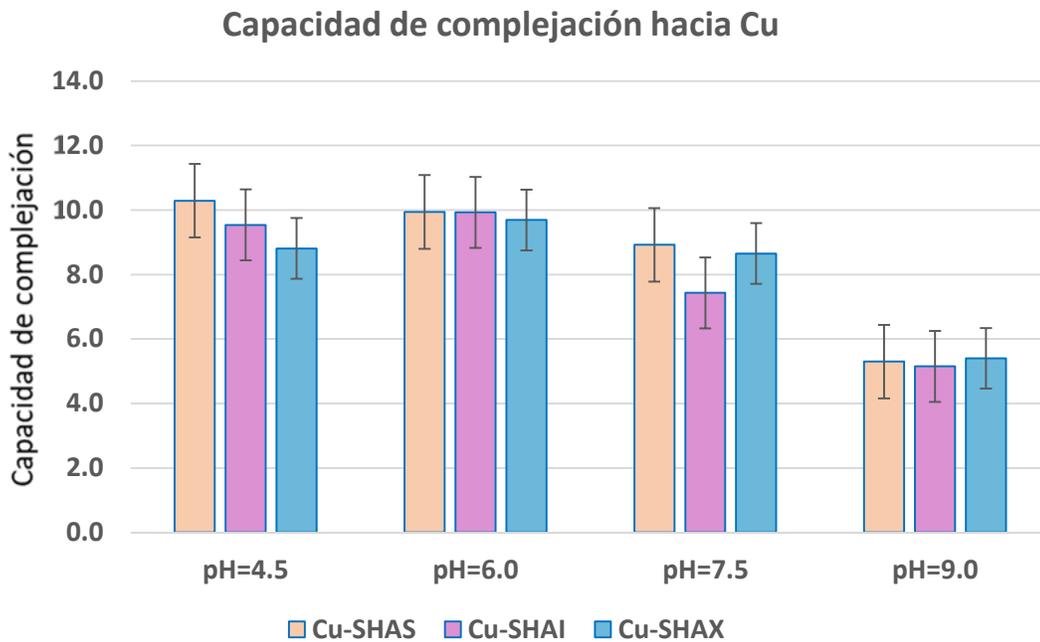


Fig. 21. Gráfico donde se muestra la capacidad de complejación de cada una de las SHA con respecto de Cu en función de la variación de pH.

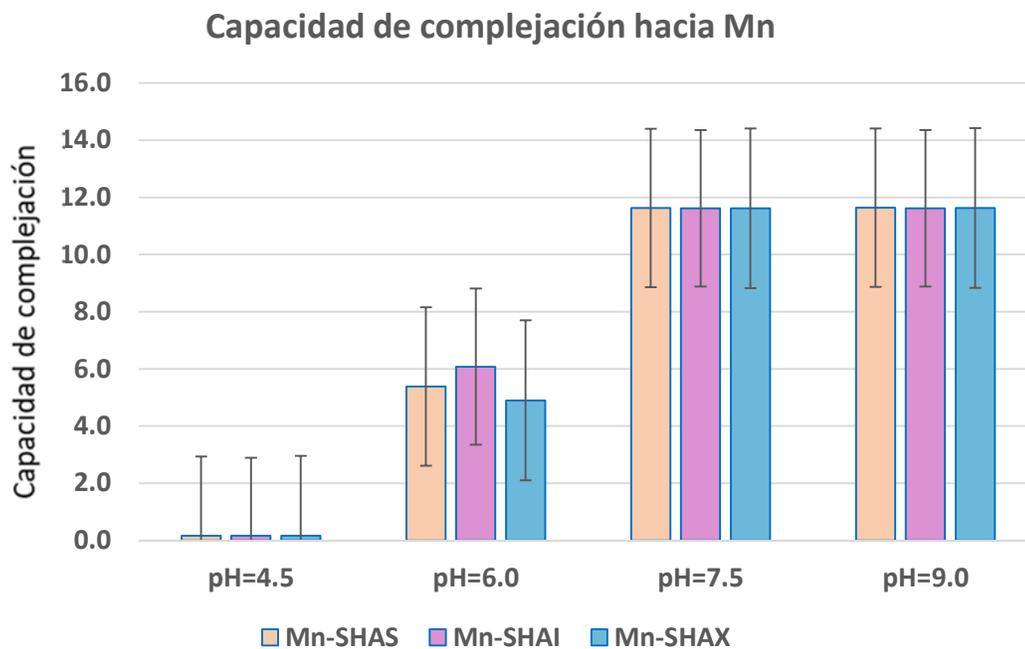


Fig. 22. Gráfico donde se muestra la capacidad de complejación de las diferentes muestras de SHA con respecto del Mn bajo las diferentes condiciones de pH.

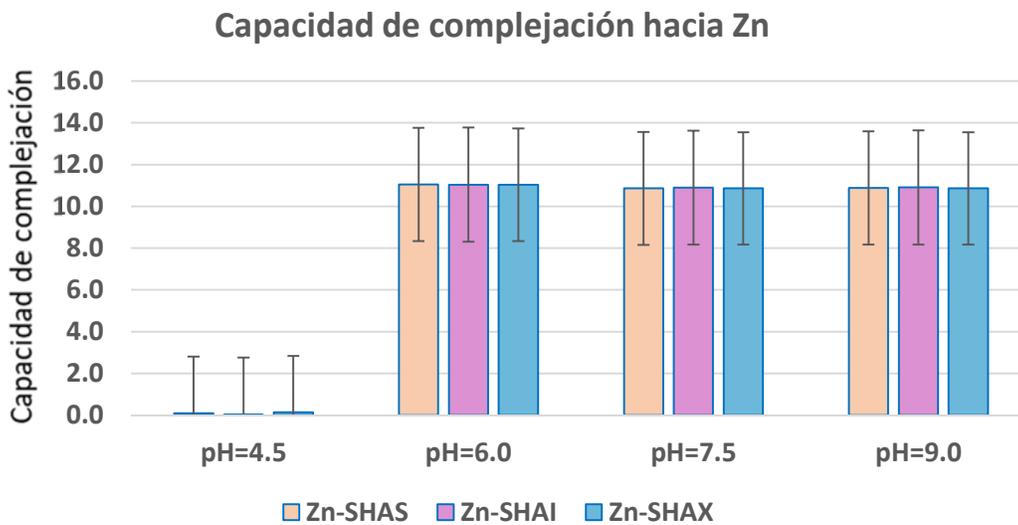


Fig. 23. Gráfico donde se pueden observar las variaciones de la capacidad de complejación de las diferentes SHA en función del pH con respecto del Zn.

## 10. DISCUSIÓN

### 10.1. Formación y características de los complejos

Las sustancias húmicas utilizadas para el desarrollo de los experimentos de este trabajo tienen diferente origen, los sitios contienen diversas concentraciones de sus precursores y distintas condiciones físico-químicas de formación, lo que influye sobre sus características químicas. Dichas propiedades pueden observarse con técnicas como la absorbancia de UV/vis.

La diferencia en el contenido de grupos aromáticos y alifáticos se determinó, como lo indican Allard et al. (1989), con base en la relación de absorbancias entre las longitudes de onda 465/665. Los resultados mostraron que las sustancias de Itapanhaú y Sorocaba tienen mayor contenido de grupos alifáticos, en tanto que el valor obtenido para las SH de (SHA) de Xochimilco indican mayor contenido de grupos aromáticos.

Los valores de la relación 465/665 (entre 5 y 10) muestran que las SHA de Itapanhaú y Sorocaba poseen un grado menor de polimerización y su valor indica la cercanía a ácidos fúlvicos más que a ácidos húmicos, en tanto las SHA recolectadas en Xochimilco están mayormente polimerizadas y se aproximan a ácidos húmicos, con un valor en la relación inferior a 5.

Tabla 10. Valores de absorbancias de cada muestra en las diferentes longitudes propuestas para el análisis de polimerización y en la última columna se muestra el valor de la razón entre ellas para su interpretación.

Muestras/ $\lambda$	240	465	665	465/665
SHAS	0.5905	0.0266	0.0026	10.35
SHAI	1.0092	0.0502	0.0053	9.43
SHAX	1.7301	0.1214	0.0387	3.14

Una vez demostrada la diferencia estructural, es importante el análisis de la diferencia en la capacidad de complejación, que se analizó por medio de la prueba *t* de student para cada uno de los elementos estudiados. Los valores nos indican

que la hipótesis nula es aceptada y las medias son estadísticamente iguales ( $t_{0.05}=2.92$ ), por lo que la diferencia estructural de las SHA no representa una variación importante en la capacidad de complejación, tal y como se observa en las siguientes tablas. Los cálculos se realizaron con 95% de confianza.

Tabla 11. Valores obtenidos de la prueba  $t$  de student para las reacciones efectuadas entre las diferentes sustancias húmicas acuáticas y el As.

As			
	SHAS-	SHAI-	SHAS-
pH	SHAI	SHAX	SHAX
9.00	0.00	0.00	0.00
7.50	0.00	0.00	0.00
6.00	0.00	0.00	0.00
4.50	0.00	0.00	0.00

Tabla 12. Valores obtenidos de la prueba  $t$  de student para las reacciones efectuadas entre las diferentes sustancias húmicas acuáticas y el Cu.

Cu			
pH	SHAS-SHAI	SHAI-SHAX	SHAS-SHAX
9.0	0.36	0.16	0.48
7.5	0.00	0.00	0.03
6.0	0.64	0.00	0.00
4.5	0.39	0.33	0.01

Tabla 13. Valores obtenidos para la prueba  $t$  de student de las constantes de equilibrio de las reacciones efectuadas entre las sustancias húmicas acuáticas y el Mn.

Mn

pH	SHAS-SHAI	SHAI-SHAX	SHAS-SHAX
9.0	0.05	0.23	0.57
7.5	0.62	0.59	0.06
6.0	0.11	0.06	0.39
4.5	0.00	0.00	0.00

Tabla 14. Valores obtenidos para la prueba *t* de student de las constantes de equilibrio de las reacciones efectuadas entre las sustancias húmicas acuáticas y el Zn.

Zn

pH	SHAS-SHAI	SHAI-SHAX	SHAS-SHAX
9.0	0.04	0.01	0.12
7.5	0.03	0.03	0.37
6.0	0.41	0.73	0.43
4.5	0.00	0.12	0.93

El comparativo de la capacidad de reacción para cada una de las sustancias húmicas acuáticas se pueden ver en las figuras 25, 26 y 27. Se aprecia que la reacción es muy similar entre ellas, lo cual muestra que, a pesar de tener diferente origen y composición, la capacidad de complejación no varía.

Podemos ver el espectro de IR para las SHA con sus bandas características en la Figura 24.

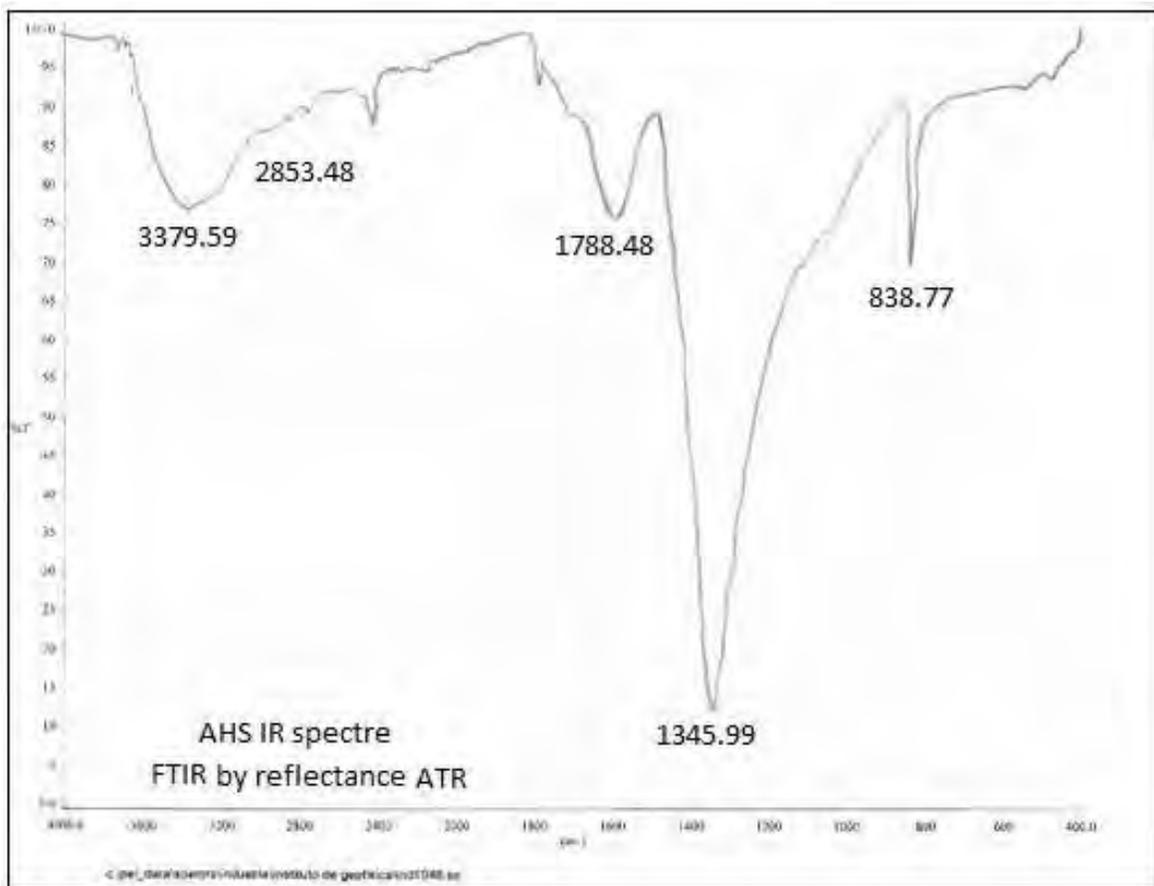


Fig. 24. Espectro de IR de las SHA de Xochimilco aisladas en el laboratorio.

### Complex vs pH SHAS

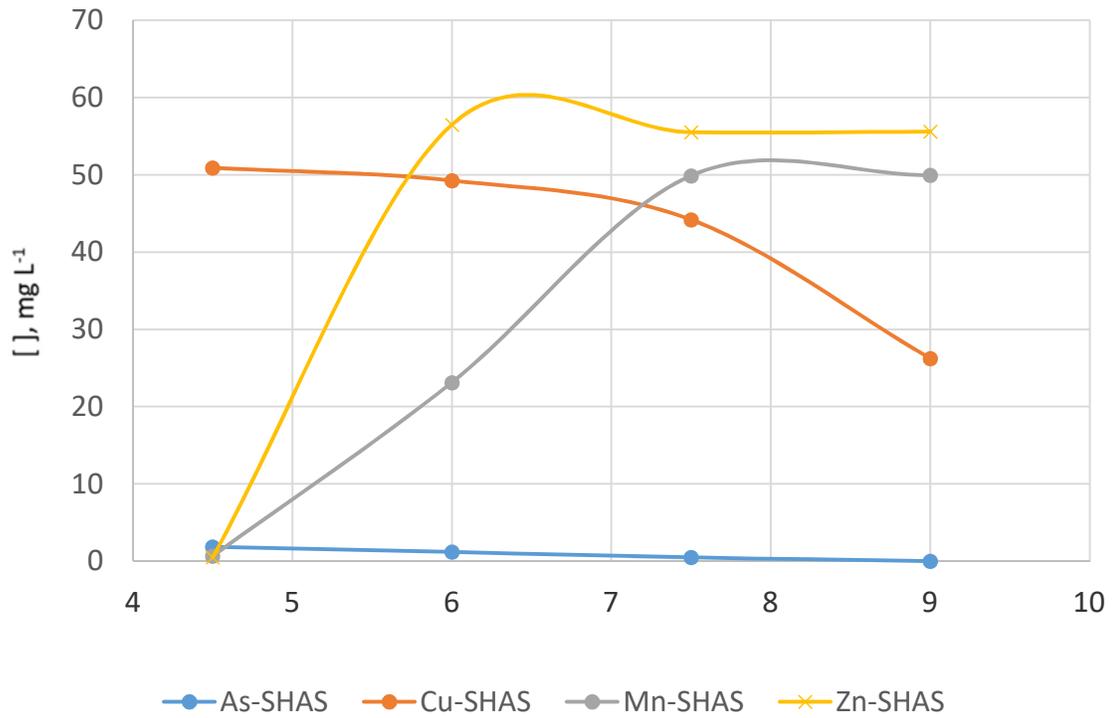


Fig. 25 Gráfico del comparativo de la concentración de cada elemento que reaccionó con las SHA de Sorocaba, bajo las diferentes condiciones de pH, en las abscisas encontramos al pH y las ordenadas corresponden al valor de la concentración del elemento que reaccionó ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

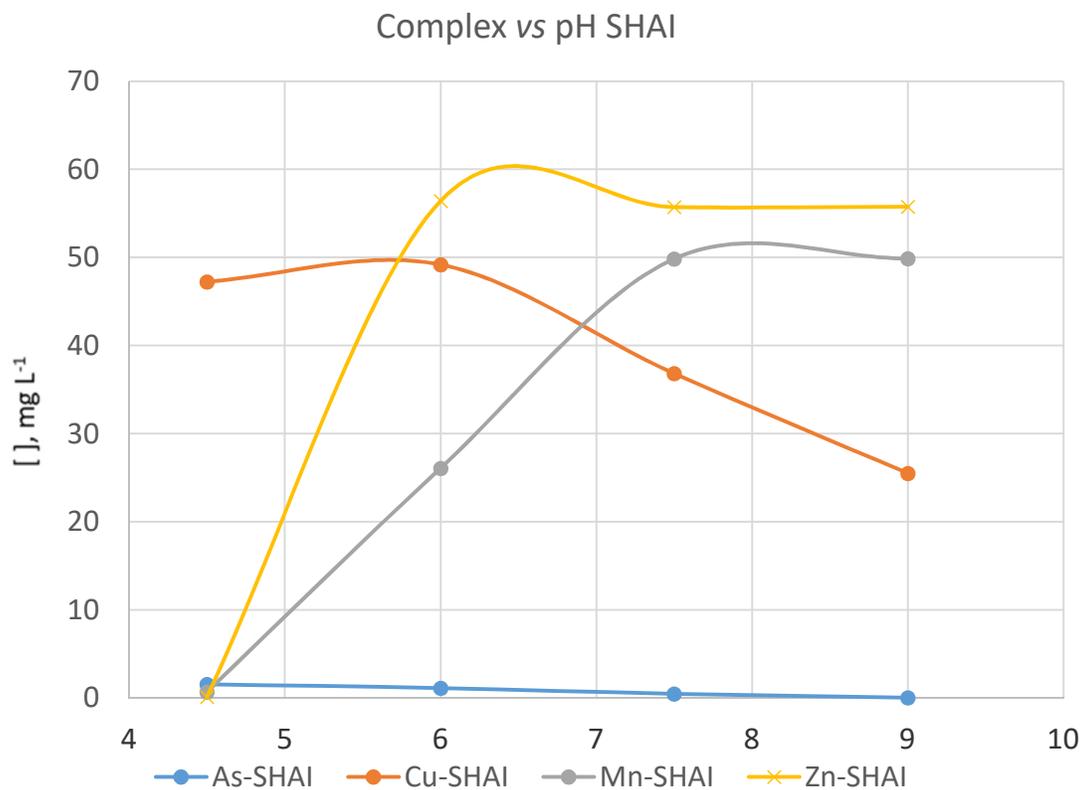


Fig. 26. Gráfico del comparativo de la concentración de cada elemento que reaccionó con las SHA de Itapanhaú, bajo las diferentes condiciones de pH, en las abscisas encontramos al pH y las ordenadas corresponden al valor de la concentración del elemento que reaccionó (mg L<sup>-1</sup>).

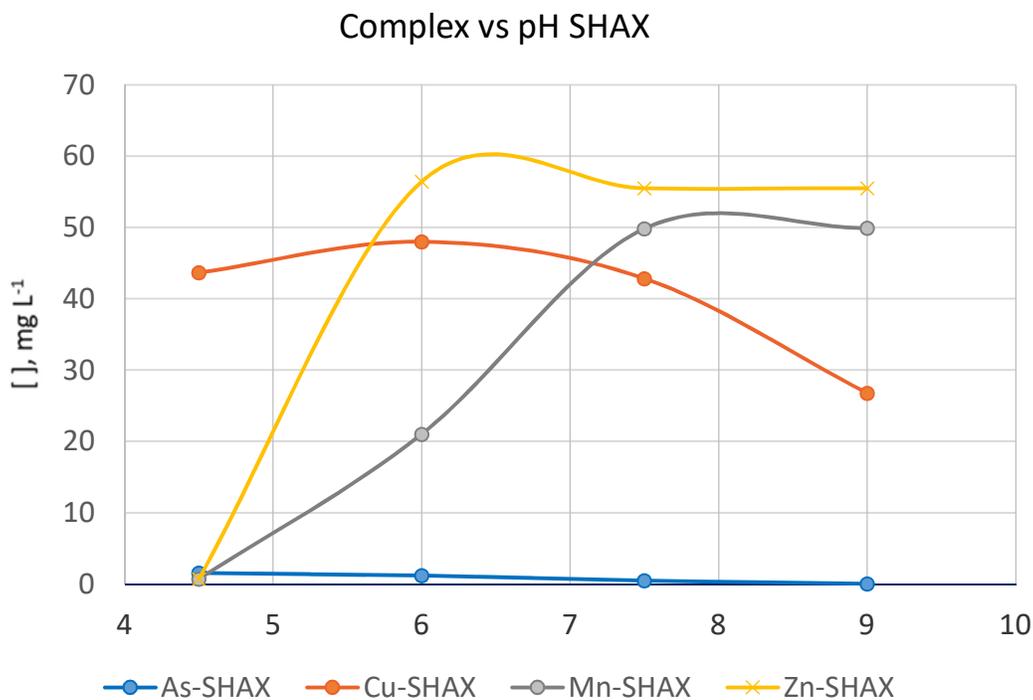


Fig. 27. Gráfico del comparativo de la concentración de cada elemento que reaccionó con las SHA de Xochimilco, bajo las diferentes condiciones de pH, en las abscisas encontramos al pH y las ordenadas corresponden al valor de la concentración del elemento que reaccionó ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

Irving y Williams (1953), Davidge et al. (2001), Huheey (2007), entre otros, indican que la capacidad de reacción de los elementos de la primera serie de transición es menor para el Mn a pH entre 4 y 7, y a pH de 10 muestra una mayor reactividad que el Fe, siendo el Cu el elemento más reactivo; sin embargo y como se observa en los resultados, el elemento con mayor constante de equilibrio es el Mn, mientras que el elemento con menor capacidad de respuesta es el As, por lo menos bajo las condiciones experimentales utilizadas para este trabajo.

Las reacciones de complejación suelen ser sustituciones nucleofílicas, también, identificadas como ácido-base según el criterio de Lewis (Huheey, 2007); el ligante tiene sitios activos que están en función del pH (Tipping et al., 2002), por eso es importante considerar los  $\text{pK}_a$ s de los grupos funcionales (el caso de los carboxilos con un intervalo de 3-5 y fenoles entre 8-10), dependiendo de la cadena

hidrocarbonada que lo acompañe, las cadenas asociadas se relacionan con la estabilización de los electrones, lo cual es mejor en los grupos aromáticos que en los alifáticos.

De acuerdo con los resultados obtenidos se observa que los valores de pH en conjunto que favorecen la reacción de complejación están entre 6 y 8, cercanos a la neutralidad, valores indicadores de que la reacción entre las SHA y los metales se lleva a cabo preferentemente en sitios activos que corresponden a los grupos carboxilo, como se puede corroborar en los espectros de infrarrojo, en donde la señal correspondiente a los grupos carboxílicos se desplaza hacia menores números de onda, tal como lo indican Stevenson y Goh (1971) y Lagier et al. (2000).

#### Complejación para As

La reacción que se lleva a cabo con el As no es cuantitativa bajo las condiciones experimentales, debido a que la especiación del As indica que se van a formar preferentemente oxianiones y, como ya se mencionó, es una reacción de sustitución nucleofílica, por lo que no es factible que proceda la reacción entre las SHA y el elemento; sin embargo, el pH modifica la carga del ión formado para el caso del As y la disposición estérica de las SHA, situación que parece favorecer ligeramente la formación del complejo en pH de 4.5; en dicho valor la constante de formación se aproxima a 10.

#### Complejación de Cu

Para el Cu se observó que los valores de capacidad de complejación y constantes de equilibrio condicionales se ven favorecidos en pH de 6, con valores con un orden de magnitud de  $10^3$  situación que concuerda con la desprotonación de los sitios activos de las SHA y la especiación de este elemento, ya que en pH alcalino se forma el hidróxido, compuesto que precipita y no permite la reacción, y a pH ácido se encuentra como ión libre.

Según lo informado en diferentes trabajos (Rudd et al., 1984; Davidge et al., 2001; Cabaniss, 2009), el Cu es el elemento más reactivo; sin embargo, después de las reacciones y cálculo de las constantes condicionales de equilibrio podemos ver que

la reacción procede, pero es menos cuantitativa que para el caso del Mn y Zn, probablemente porque cuando el Cu se encuentra como ión libre no todos los sitios activos de las SH están disponibles; ya que, los resultados indican que el sitio favorecido para reaccionar es el de los carboxilos; sin embargo, la reacción que bajo estas condiciones de pH se favorece es la protonación; a pesar de lo mencionado, la actividad de cada elemento genera una competencia de la reacción de protonación y de complejación.

El complejo de Cu-SHA se caracterizó por medio de un análisis de IR de donde se observa que el metal se unió al oxígeno de los grupos carboxilos, lo cual se aprecia en el desplazamiento de la banda de absorbancia de  $1700\text{ cm}^{-1}$  a  $1500\text{ cm}^{-1}$  debido al enlace O-Cu; esto lo vemos en la figura 28.

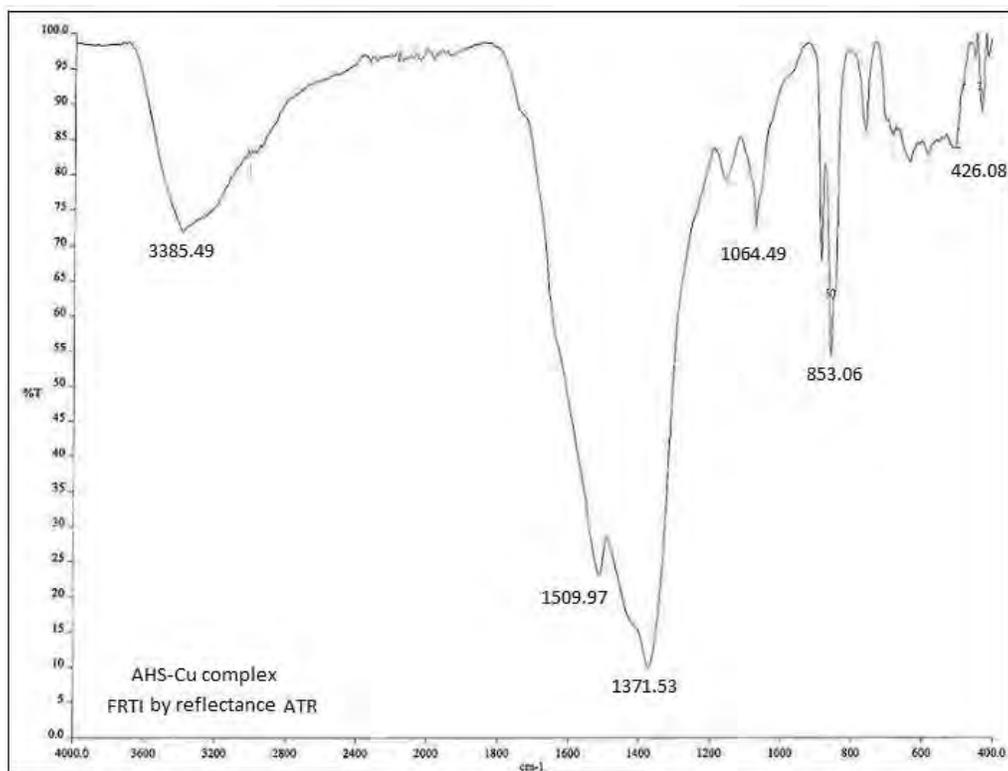


Fig. 28. Espectro de Infrarrojo para el complejo SHA-Cu.

Como parte de la caracterización también se tomaron imágenes con el microscopio electrónico de barrido y se hizo un análisis semicuantitativo, en el que se distingue la presencia del metal en el compuesto, además de la presencia de Al y Cl; estos

elementos corresponden a la composición de la platina y el pegamento requerido para fijar la muestra. La información se puede ver en la Figura 29.

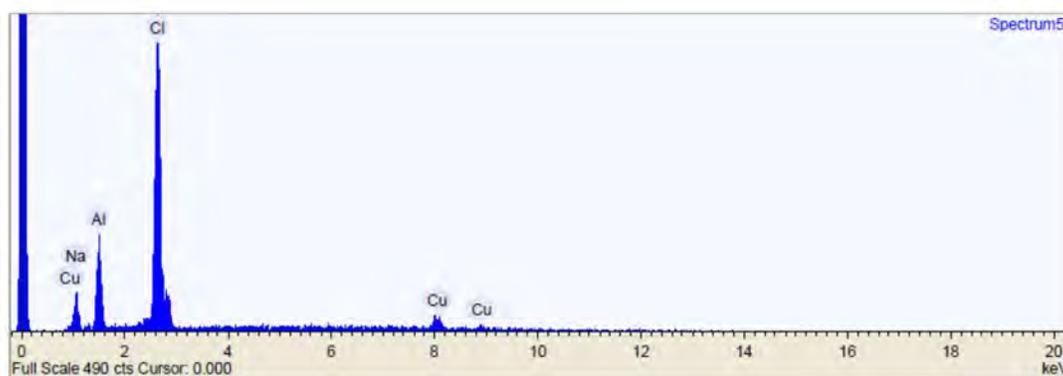
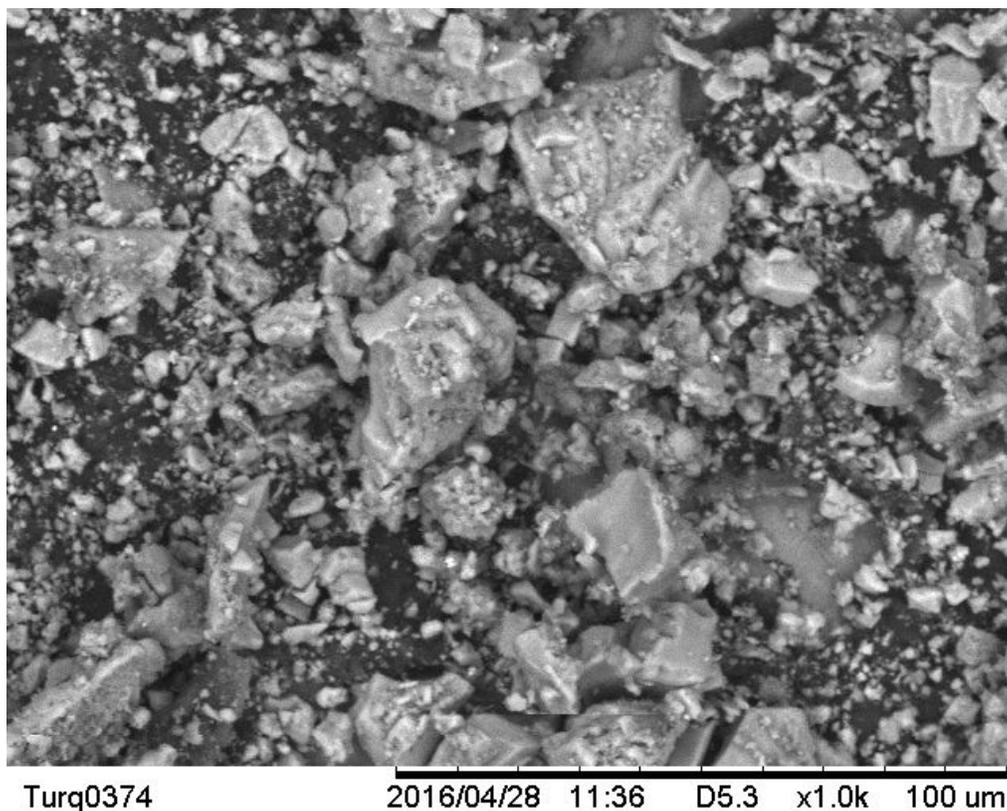


Fig. 29. En la parte superior se observa la imagen del complejo SHA-Cu observado con el MEB y en la parte inferior el análisis semicuantitativo del compuesto, en el que se aprecia al Cu en la estructura.

## Complejación de Mn

El Mn ve favorecida la reacción de complejación en los pHs superiores a 6, obteniendo los valores más cuantitativos en 7.5; sin embargo, la caracterización del compuesto permitió determinar que el complejo no es estable y si no se aísla prontamente del medio el compuesto reacciona bajo las nuevas condiciones y forma el carbonato correspondiente, como se puede ver en el comparativo de los espectros de infrarrojo (figura 30), por otro lado, si el compuesto se aísla a la brevedad, se logra observar el complejo, como se muestra en el espectro de la Figura 32.

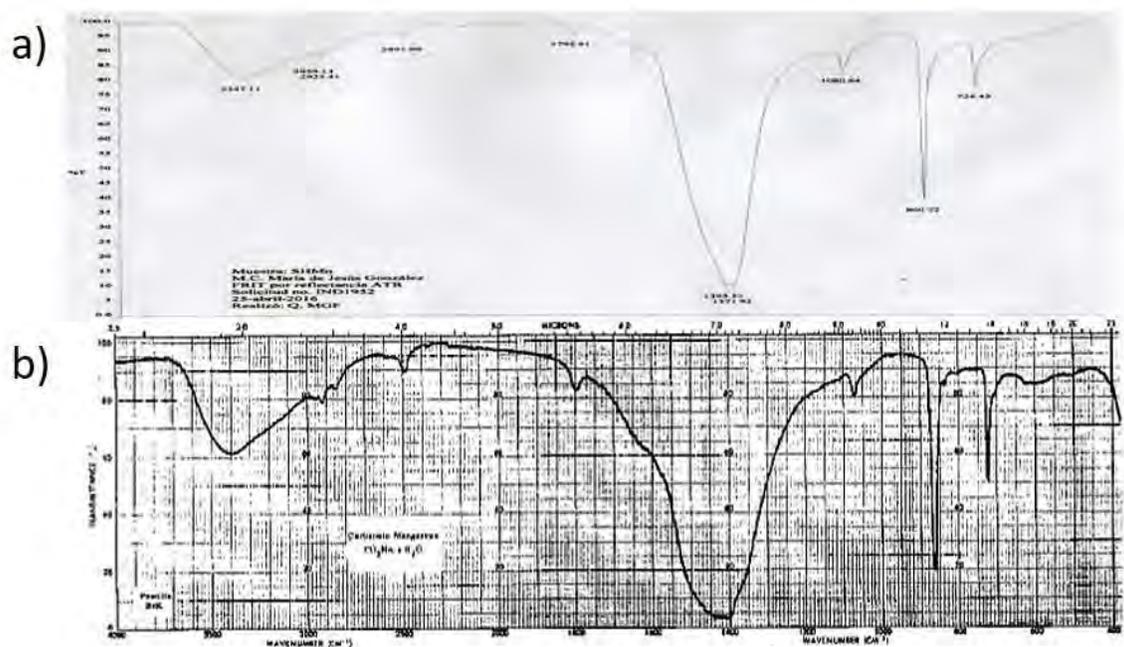


Fig. 30. Comparativo de los espectros de infrarrojo del primer compuesto aislado para Mn (a) y el teórico (b) del carbonato del metal antes mencionado, en donde se aprecia la concordancia de los espectros.

Al igual que para el Cu, se tomó la imagen con la ayuda del MEB y se realizó el análisis semicuantitativo, lo cual podemos ver en la Figura 31, que es un polvo muy fino y el análisis elemental muestra la presencia de Mn, lo cual aunado al resultado del espectro de IR indica que el compuesto formado es  $MnCO_3$ .

La formación del carbonato implica que se produce la oxidación de materia orgánica lo que puede modificar drásticamente las condiciones óxicas, y de un ambiente reductor puede volcarse a uno oxidante, además como el  $\text{MnCO}_3$  tiene una baja solubilidad ( $K_{ps}=1.8 \times 10^{-11}$ ) el Mn precipitará y descenderá su concentración en la columna de agua.

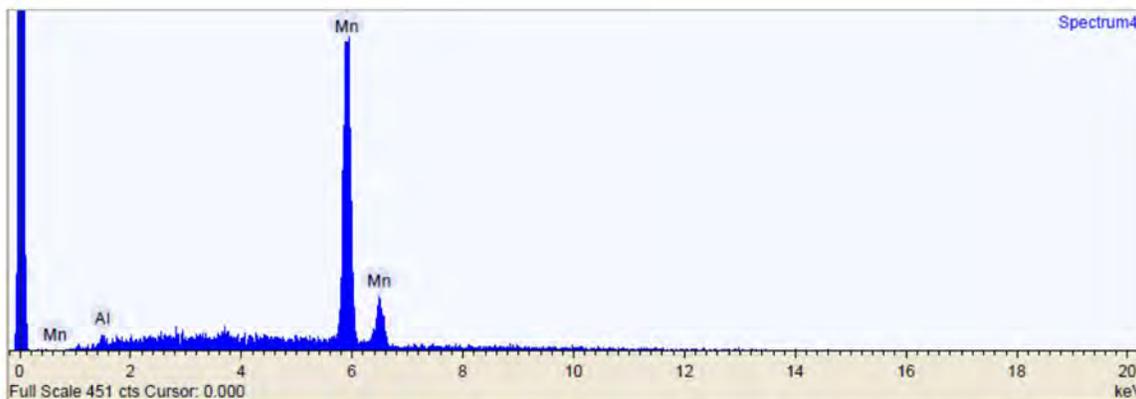
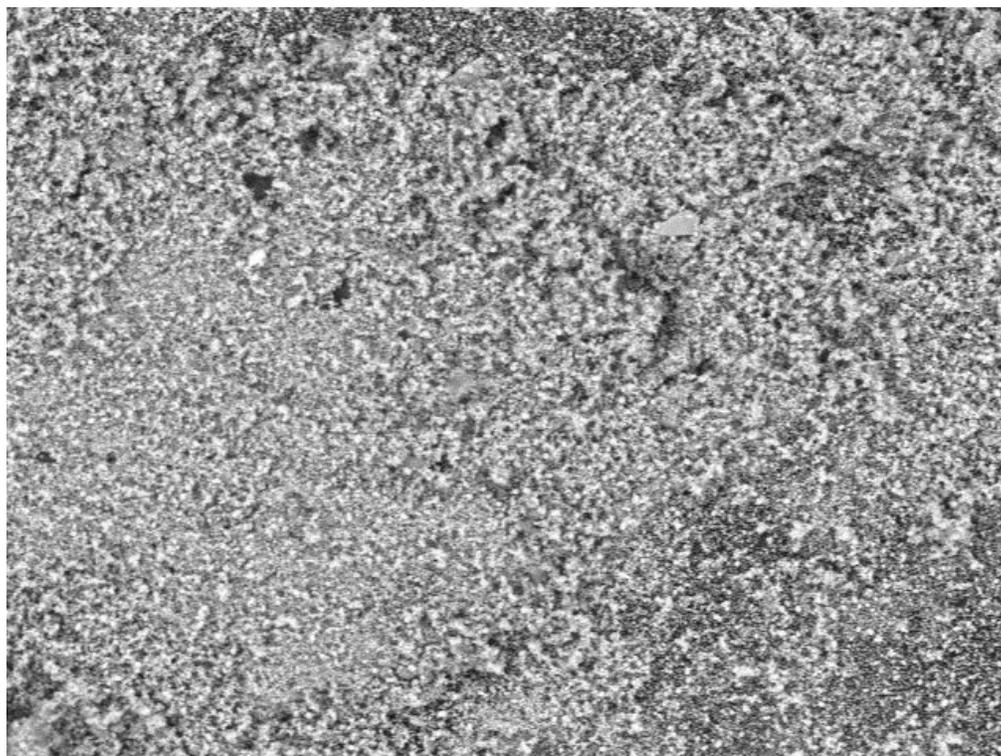


Fig. 31. En la parte superior se observa la imagen del compuesto formado que se atribuyó al  $\text{MnCO}_3$  y en la parte inferior el análisis semicuantitativo del mismo.

En la repetición del experimento se obtuvieron resultados diferentes; en el espectro de IR se observa la presencia de materia orgánica, situación que no se verifica en el espectro anterior; además, las bandas ya no se encuentran tan desplazadas como en el primer caso, en la imagen del MEB, ya no se cuenta con el polvo fino y en el análisis semicuantitativo no se aprecia una concentración muy superior para el Mn con respecto de los demás elementos. Se identifican Al y Cl como en los casos de Cu y Zn. Las imágenes las podemos ver en la Figura 33

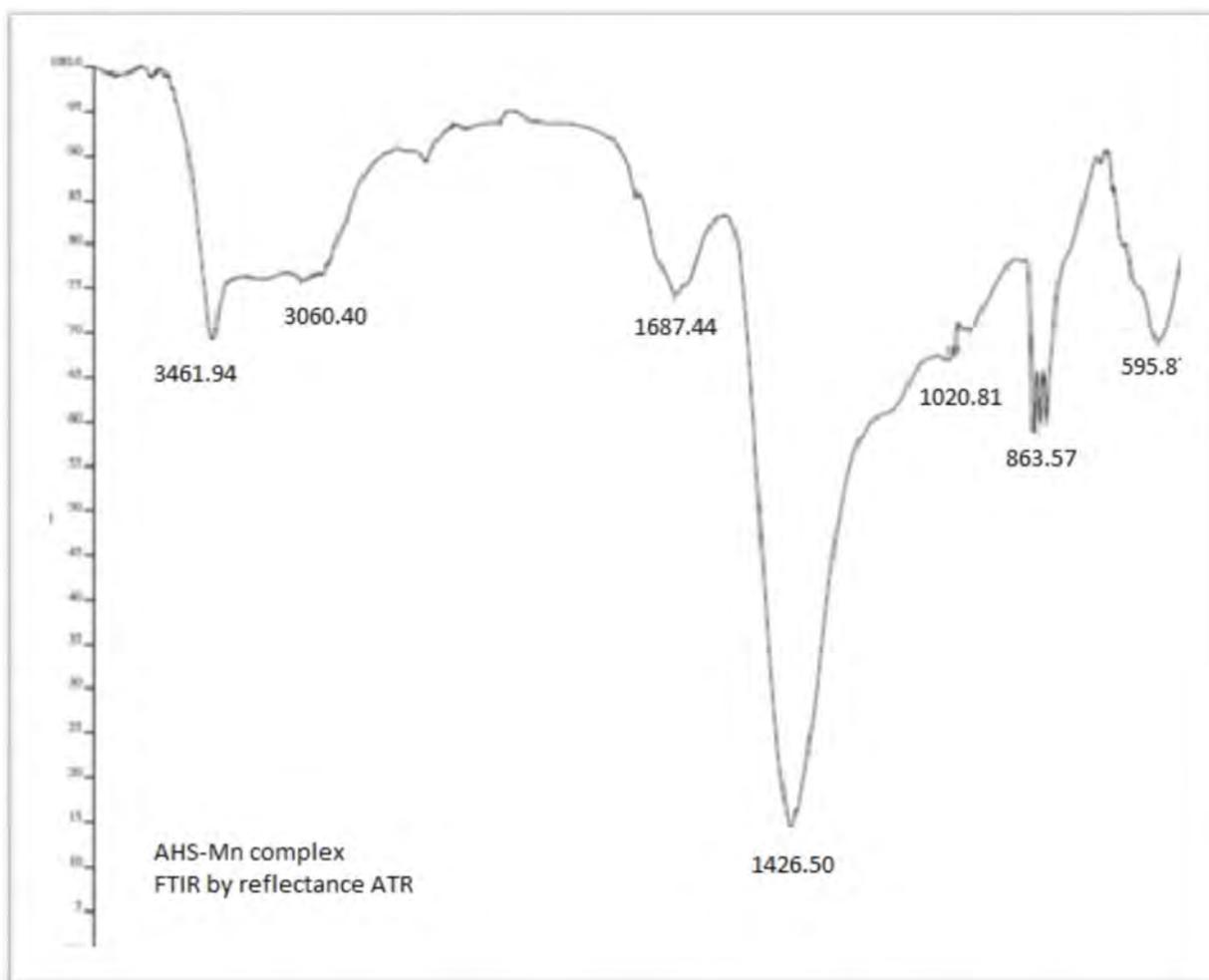


Fig. 32. Espectro de infrarrojo para el complejo de Mn-SHA después, cuando se repitió la reacción, en donde se aprecia la presencia de materia orgánica a diferencia del espectro anterior.

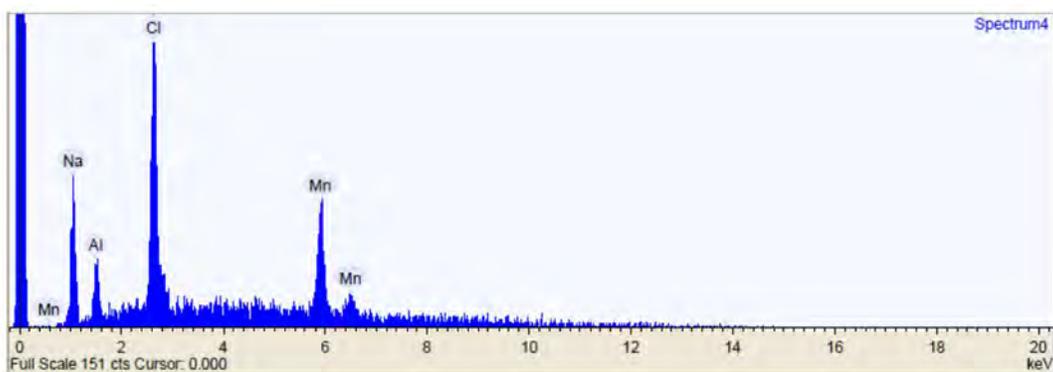
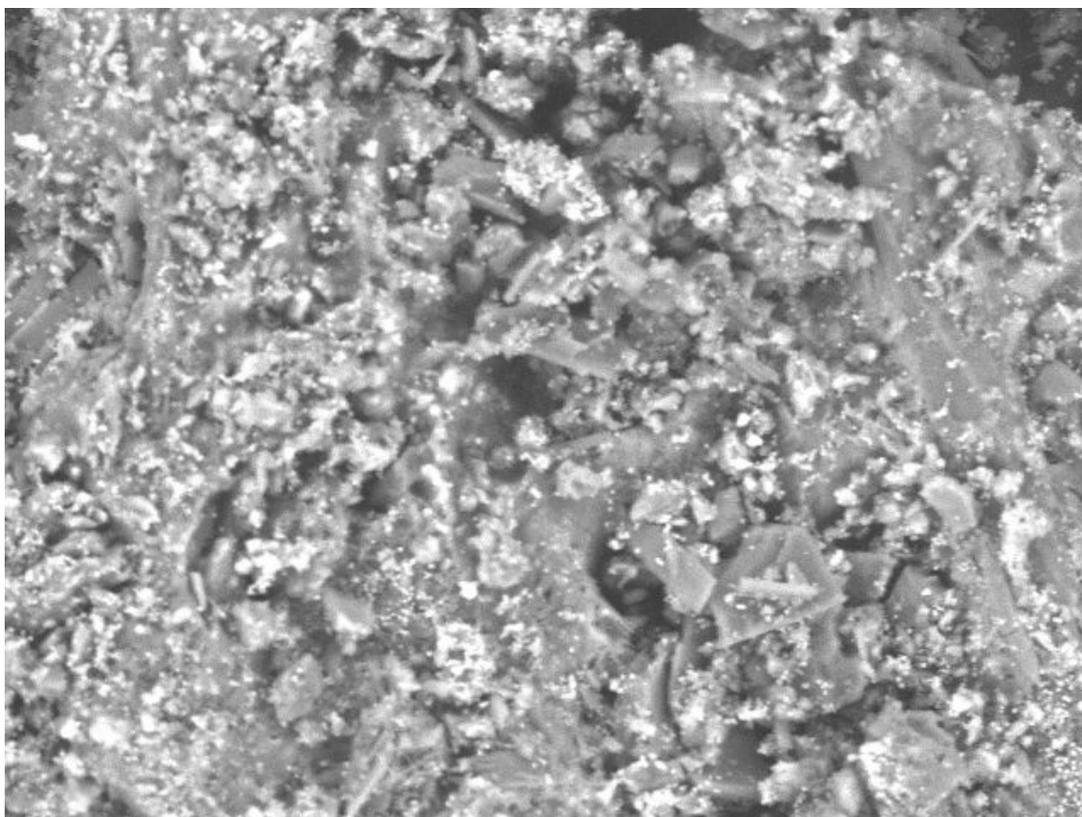


Fig. 33. En la parte superior se aprecia el espectro de IR del complejo SHA-Mn, en la parte intermedia la imagen tomada en el MEB para el compuesto y en la sección inferior se observa el análisis elemental.

Por otra parte el comportamiento del  $Mn^{II}$  se puede considerar atípico, ya que la formación del carbonato a partir de la oxidación de la materia orgánica no parece muy factible. Sin embargo el hecho de que el Mn funcione como cofactor de varias enzimas (Nelson y Cox, 2003; Margalef, 1983), indica que puede sufrir oxidación y reducción como un intermediario, por lo que el producto será un compuesto de  $Mn^{II}$ ,

y la fracción que se habrá oxidado es la materia orgánica, lo que explica por qué al final del proceso se obtiene  $\text{MnCO}_3$ .

El análisis de XPS indica que el Mn se encuentra dismutando entre (II) y (IV), coincidiendo con lo que indica Margalef (1983), por lo que se puede vincular al proceso de oxidación de la materia orgánica.

No es factible obtener el óxido del metal porque se tiene la presencia de carbono, el cual es el elemento involucrado en el proceso óxido-reducción en conjunto con el  $\text{Mn}^{\text{II}} - \text{Mn}^{\text{IV}}$ . La formación de  $\text{MnCO}_3$  se ve favorecido en pH superior a seis y Eh en el intervalo  $-1.0$  a  $0.2$  V.

### Complejos de Zn

El Zn muestra en su especiación que en disolución acuosa bajo las condiciones experimentales se encuentra como  $\text{Zn}^{2+}$ , por tanto su complejación dependerá de la disponibilidad de las sustancias húmicas acuáticas. Para este elemento, como se observa en los gráficos, la cuantitatividad fue alta en un pH entre 6 y 9, pero en  $\text{pH}=4.5$  la reacción no procedió, explicación que coincide con la competencia entre la reacción de complejación y protonación de los sitios activos del ligante (Chen et al., 2007), de acuerdo con los resultados obtenidos la reacción favorecida es la segunda.

La imagen del espectro de IR realizado para el complejo SHA-Zn se puede ver en la Figura 34, en donde se aprecia que la unión de las moléculas SHA y el metal se da en los sitios de los ácidos carboxílicos, debido a lo que las bandas generadas por estos grupos funcionales es desplazada hacia  $1500 \text{ cm}^{-1}$ .

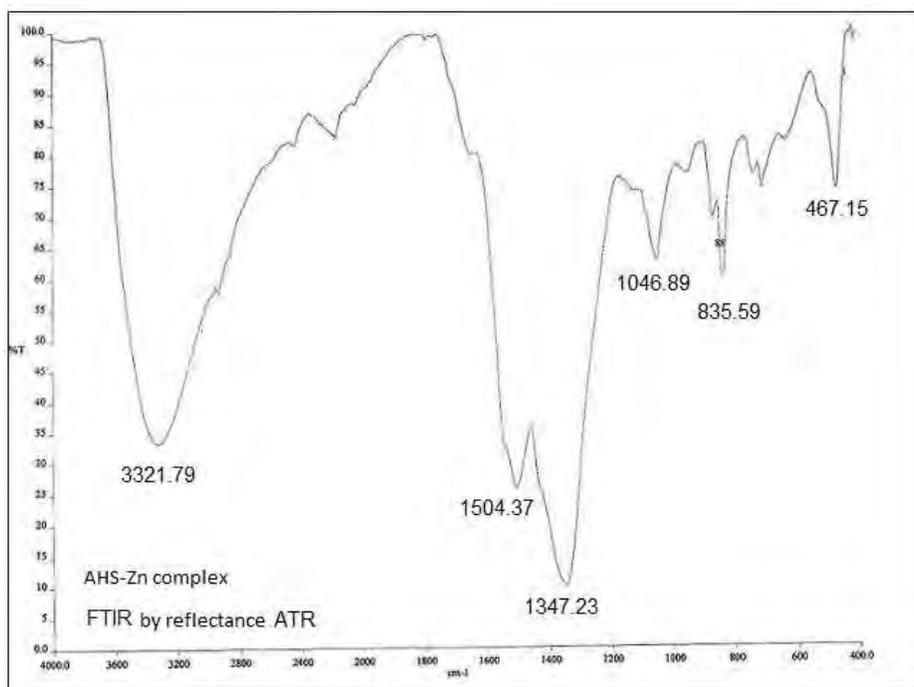
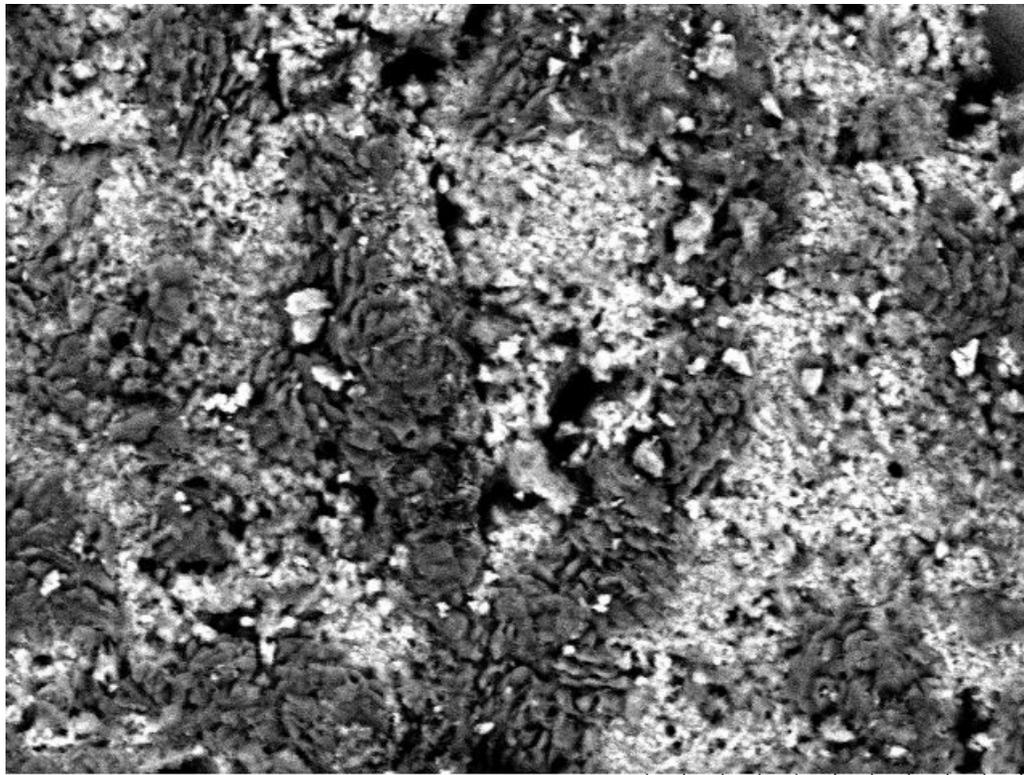


Fig. 34. Espectro de IR para el complejo Zn-SHA, que muestra bandas características de reacción de complejación a partir de los grupos carboxilos.

Las imágenes obtenidas con el MEB y el análisis elemental semicuantitativo confirman la presencia de Zn en el compuesto y al igual que para Cu y Mn se encuentran presentes Al y Cl, correspondientes a la platina y pegamento para fijar la muestra.



TM1000\_0113 2017/03/22 11:35 x1.2k 50 μm

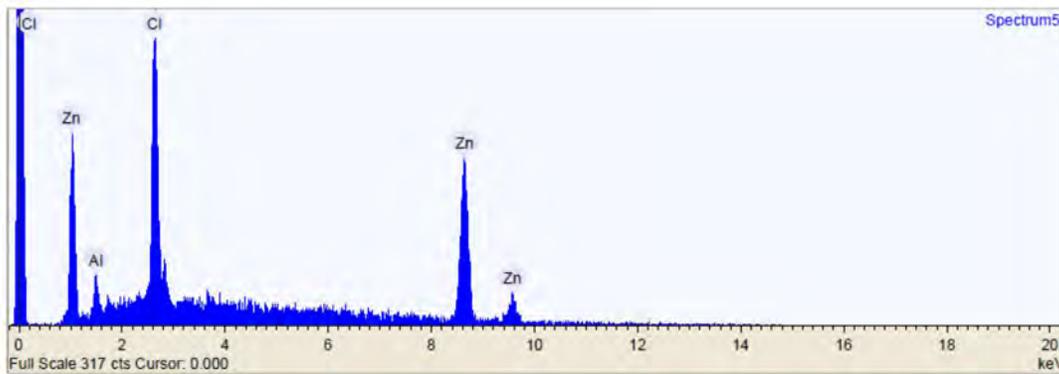


Fig. 35. En la parte superior se aprecia el complejo SHA-Zn observado a través del MEB y en la parte inferior se muestra el análisis elemental semicuantitativo del compuesto formado.

En general se puede decir que las imágenes obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (MEB) muestran que los complejos tienen una estructura fibrosa, salvo para el primer caso del Mn; en donde se aprecia una estructura de talco, que corresponde al carbonato de manganeso, pero cuando se repitieron los

experimentos se observó que la estructura se modificó y se encuentra la misma estructura fibrosa que para Cu y Zn.

Diferencia entre sales precursoras para la complejación de Cu.

Los valores de las constantes de equilibrio para el Cu se encuentran por debajo de los valores obtenidos para Mn y Zn, situación que nos llevó a comparar si el anión de la sal precursora afecta la cuantitatividad de la reacción, para lo cual se utilizaron dos sales diferentes:  $\text{CuSO}_4$  y  $\text{CuCl}_2$ . Los resultados plasmados en el gráfico de la Figura 36 muestran que ambas sales presentan la misma tendencia, pero el valor de las constantes de complejación se ve ligeramente incrementado cuando empleamos la segunda sal, situación que se puede deber a cuestiones estéricas, porque el ion sulfato es más voluminoso que el cloruro, además de que el sulfato podría tener interacción con el azufre presente en la estructura de las SHA.

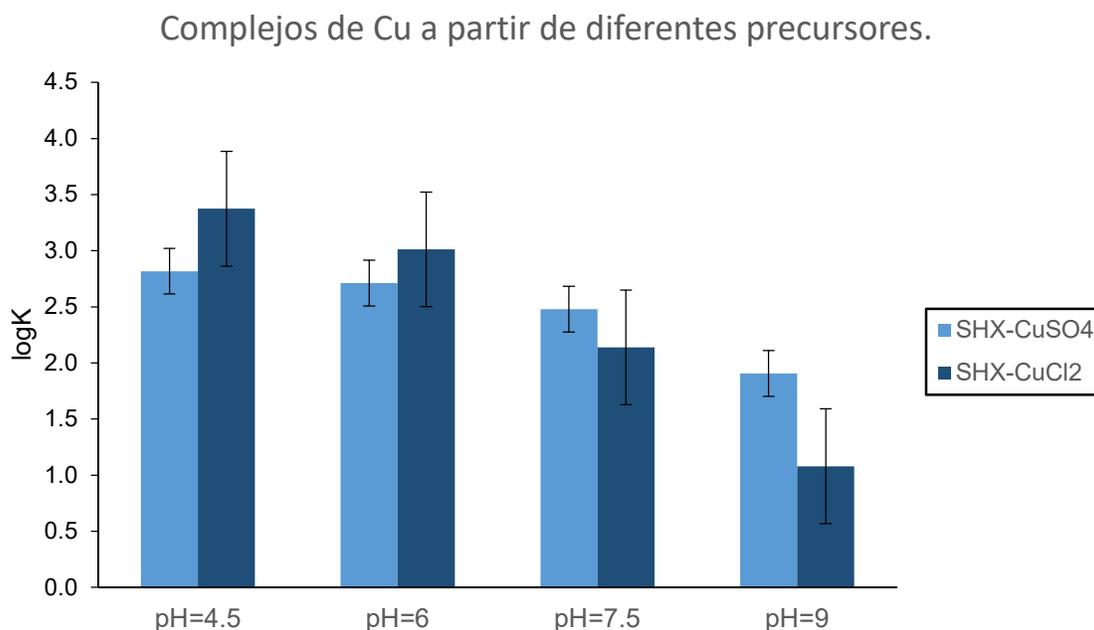


Fig. 36. Gráfico de comparación entre la reactividad en función del grupo saliente, sulfato y cloruros en las reacciones bajo las diferentes condiciones de pH.

Con estos resultados se muestra que en un ambiente natural será muy importante los precursores o fuentes del elemento, para la cuantitatividad de la reacción, debido

a que pueden favorecer la reacción de sustitución o bien impedirla por cuestiones estéricas o de afinidad.

La comparación de las reacciones para los diferentes elementos mostró que el As no reacciona, salvo a pH de 4.5 donde la reacción es poco cuantitativa; el Cu reacciona en los valores de pH empleados, salvo que a pH 9 la cuantitatividad disminuye; el Mn presenta reacciones sumamente cuantitativas a pH próximos a la neutralidad en tanto que es nula la cuantitatividad a pH de 4.5; el Zn tiene una gran cuantitatividad, salvo a pH 4.5 en donde no reacciona.

Cabe destacar que los compuestos con Cu y Zn muestran mayor estabilidad que los de Mn, los cuales -al modificar las condiciones físico-químicas- se oxidan y producen el carbonato, ya que el Mn dismuta y en estado de oxidación (IV) tiene la posibilidad de oxidar la materia orgánica.

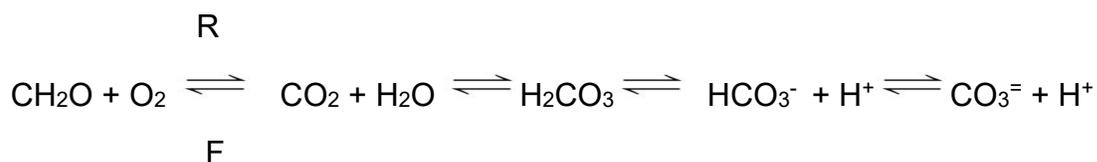
Se puede decir que el sitio que van a preferir los metales para la reacción de complejación son los de los grupos carboxilos, ya que es la señal que se ve afectada de forma general en los espectros de IR, y no tanto los fenoles, además de que los valores de pH de complejación coinciden con la desprotonación del mismo grupo (~4), pues para tener libre a los grupos fenólicos se debería de incrementar el pH, debido a que su pka es alrededor de 9.

## 10.2 Dinámica esperada en relación a los complejos formados entre las SHA y los metales en el Lago de Xochimilco

Las aguas del humedal “lago” de Xochimilco tienen diferentes condiciones físico-químicas en función de su utilización: la turística, de chinampería y la urbana (López-López, 2006); cada una presenta características propias de materia orgánica, Eh, pH, profundidad, Ta (Temperatura ambiente). Será precisamente la combinación puntual de estas propiedades las que determinarán las reacciones predominantes. Sin embargo y a pesar de esta variabilidad de condiciones ambientales en Xochimilco, se mantiene en común una característica que a su vez se relaciona con variaciones en el pH y, por ende, en las dinámicas entre SHA y

los metales: Las aguas de Xochimilco naturalmente presentan reservas alcalinas relativamente bajas (alcalinidades totales alrededor de  $189 \pm 34 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , Rocha-Ramírez et al., 2014) para cuerpos de aguas continentales; estas condiciones hacen que el pH no sea conservativo; es decir, que puede cambiar en espacio y tiempo cuando haya tasas fotosintéticas muy elevadas (lo que tiende a basificar el medio en la zona iluminada, asociado a cantidades importantes de nutrientes) o bien tasas de respiración/fermentación asimismo importantes (lo que tiende a acidificar el medio, asociado a cantidades importantes de materia orgánica biodegradable). Estos cambios de pH se originarían precisamente por el acoplamiento de las reacciones del carbono inorgánico (equilibrio carbónico-carbonatos) en la reserva alcalina, con la reacción reversible de la fotosíntesis/respiración (asociada con la conversión de carbono inorgánico en orgánico y viceversa). Resumidamente:

Equilibrio carbónico-carbonatos



F= Fotosíntesis, R= Respiración

En las aguas de la zona turística existe una menor cantidad de nutrientes (López-López 2006), por lo tanto, la presencia de materia orgánica es inferior a la de las otras dos áreas; aquí esperamos que las reacciones entre SHA y los diferentes metales se vean favorecidas, pues de acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, el elemento que no reaccionará será el As, en tanto que los complejos con Cu, Mn y Zn sí se formarán. Sin embargo, si el pH descendiera, la reacción de protonación se vería favorecida y los metales ya capturados en los complejos volverían a la columna de agua, pudiendo poner en riesgo a la biota acuática.

Por otro lado, si cambia la solubilidad y los complejos precipitan, entonces la principal modificación sería que disminuiría la concentración de los metales en la columna de agua. En el sedimento la presencia de los complejos también se

modificaría dependiendo de las condiciones óxido reductoras, ya que un ambiente anóxico favorecería la disminución de pH y, por lo tanto, el equilibrio de reacción se desplazaría hacia la protonación de los sitios activos de la complejación.

En las aguas de la zona de chinampería se registra que tiende a aumentar la cantidad de nutrientes y de materia orgánica, debido al desarrollo de la actividad agrícola, en donde se emplean fertilizantes (Ramos et al., 2011), situación que favorece las reacciones de complejación, pero no sólo entre las SHA y los metales, sino también entre la materia orgánica no refractaria y los metales; entonces, las reacciones dependerán de la mayor afinidad entre ellos. Además, habrá que considerar el potencial óxido-reducción, el cual al asociarse con zonas anóxicas, disminuirá el pH, siendo ésta una condición no favorable para los complejos estudiados en este trabajo. Si consideramos la formación de los complejos, lo más probable sería que habría muy poca cuantitatividad y, en sí, la complejación con SHA no sería determinante para la especiación de los metales.

En la zona urbana se deben considerar 2 importantes fuentes de precursores de SHA: la presencia de materia orgánica por las descargas antropogénicas y por los organismos presentes como el lirio acuático (*Eichornia crassipes*) y otras especies incluso microscópicas que llegan a crecer desmesuradamente, en esta zona el pH encontrado es más elevado (posiblemente por lo ya mencionado, que un exceso de fotosíntesis sobre la respiración tiende a basificar el pH), al menos en la parte superficial, lo que va a permitir la formación de los complejos entre las SHA y los metales de forma muy cuantitativa especialmente con Zn y Mn; sin embargo, si estos compuestos precipitan, una vez más el resultado es diferente, porque debido a la poca mezcla y la presencia de la materia orgánica se crean ambientes anóxicos que repercuten en una disminución de pH (probablemente por la respiración, ya sea a través del consumo del oxígeno mientras todavía está presente, o por vías anaerobias como la fermentación cuando el oxígeno ya se ha agotado)y, por lo tanto, se podría dar la liberación del metal hacia la columna de agua o bien para disposición de los organismos que se encuentren en el fondo, si no hay la suficiente mezcla en columna para la re-solubilización.

Podemos decir que la formación de complejos con SHA y metales sí puede ser una excelente forma para tratar agua contaminada por metales, sólo que es muy importante -como en toda reacción- controlar el pH, ya que el empleo de las SHA tiene una ventaja: al ser refractarias no contribuirían en el proceso de eutrofización, pero sí sería muy importante determinar la toxicidad de los complejos formados, con el fin de asegurar una mejor preservación de la biota y de las comunidades humanas que hacen uso del recurso agua para las chinampas.

Además de considerar la toxicidad, también se debería de considerar la solubilidad y estabilidad, conjuntamente con un posterior modo de extracción. Una caracterización adecuada permitirá realmente observar el alcance de las reacciones y conseguir una situación más funcional.

Con el fin de lograr un uso sostenible que preserve el recurso, naturalmente los cuerpos de agua deben de ser protegidos, pero si queremos entender cómo protegerlos mejor, debemos de estudiar las interacciones físico-químicas posibles, con el fin de proponer mecanismos efectivos que coadyuven a la preservación, tanto de sus valores intrínsecos y extrínsecos. Los intrínsecos relacionados con la preservación de comunidades y equilibrios acuáticas, especialmente relacionados con el mantenimiento de las especies endémicas, como el axolote en Xochimilco. Los extrínsecos referidos al uso sostenible que el ser humano ha dado a los sistemas acuáticos; en especial en Xochimilco, el aprovechamiento de las chinampas desde tiempos prehispánicos, que actualmente se ve amenazado por el desmedido crecimiento de la mancha urbana y la contaminación resultante.

## 11. CONCLUSIONES

- Las sustancias húmicas obtenidas de los distintos cuerpos de agua presentan una capacidad de complejación con los elementos estudiados estadísticamente igual, por lo que no está en función de su origen.
- Las SHA de los diferentes sitios bajo las condiciones experimentales de reacción tienden a formar complejos con Cu, Mn y Zn, no así con As (V).
- Después de aislar los compuestos de la reacción, se puede apreciar que los complejos de Mn son menos estables y sólo están como intermediarios, en tanto los de Cu y Zn, presentan una mayor estabilidad.
- Los pHs favorables para la formación de complejos entre las SHA y Cu, Mn y Zn son entre 6 y 7.5, valores comunes dentro de los cuerpos de agua naturales, por lo tanto los complejos sí se formarán.
- Los grupos funcionales que reaccionan para formar los complejos son los carboxilos.
- El elemento que se vio más favorecido para formar los complejos es el Zn.
- La especiación de los metales y metaloides es muy importante debido a que es una reacción de sustitución nucleofílica.
- Los sitios activos de las SHA objeto de estudio de este trabajo estarán en función del pH debido a que se generan a partir de una reacción ácido-base.
- Los complejos SHA-metal son relevantes dentro de los sistemas acuáticos debido a que se afecta la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de los metales.
- Las reacciones de complejación se pueden considerar una forma de eliminar contaminantes metálicos de los sistemas acuáticos.
- El complejo de Mn muestra poca estabilidad al oxidar la materia orgánica y formar el carbonato correspondiente.

- Las SHA pueden adsorber al As, por lo que sí pueden modificar su presencia en sistemas acuáticos, y funcionar, en condiciones controladas de pH y redox, como agentes que disminuyan sus efectos tóxicos en sistemas acuáticos afectados.

## 12. REFERENCIAS

- Abbt-Braun G., Lankes U, Frimmel F. H. (2004) **Structural characterization of aquatic humic substances- The need for a multiple method approach.** Aquatic. Sciences, 66;151-170.
- Allard B, Borén H., Grimvall A. (1989) **Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment.** Proceedings of an International Symposium Linköping, Sweden. Springer\_Verlag.
- Armienta MA., Segovia N. (2008) **Arsenic and fluoride in the groundwater of Mexico,** Environment Geochemist and Health, 30, 4; 345-353.
- Avena M. J., Vermeer AWP., Koopal L. K. (1999). **Volume and structure of humic acids studied by viscometry pH and electrolyte concentration effects.** Colloids and Surfaces, 151; 213-224.
- Barschat B. M., Cabaniss S E., Morel F MM (1992) **Oligoelectrolyte model for cation binding by humic substances.** Environmental. Sciences and Technology, 26; 284-294.
- Bethe H., (1929). **Splitting of Terms in Crystals.** Annalen der. Physik 3, 133-206.
- Bresnahan W. T., Grant C. L., Weber J. H. (1978) **Stability constants for the complexation of copper (II) ions with water and soil fulvic acids measured by anion elective electrode.** Analytical Chemistry, 50, 12; 1675-1679.
- Bryan S. E., Tipping E., Hamilton-Taylor J., (2002) **Comparison of measured and modeled copper binding by natural organic matter in freshwaters.** CBP, 133; 37-49.
- Burba P., (1994) **Labile/inert metal species in aquatic humic substances on ion-exchange study.** Fresenius Journal of . Analytical Chemistry, 348; 301-311.
- Burba P., Rocha J., Klockow D. (1994) **Labile complexes of trace metals in aquatic humic substances: Investigations by means of an ion exchange-based flow procedure.** Fresenius Journal Analytical Chemistry. 349;800-807.
- Cabaniss S. E. (2009) **Forward modeling of metal complexation by NOM: I. A priori prediction on of conditional constants and speciation.** Environmental Science & Technology 43; 2838-2844.
- Camargo V M., Cruz T L E., (1999) **Sustancias húmicas en aguas para abastecimiento.** Revista Ingeniería e Investigación. 44; 63-72.
- Chakraborty P.,Chakrabarti C. L. (2008) **Competition from Cu(II), Zn(II) and Cd(II) in Pb(II) binding to Suwanne River fulvic acid.** Water, Air, Soil Pollution. 195 (1-4), 63-71.
- Chen C., Wang X., Jiang H., Hu W., (2007) **Direct observation of macromolecular structures of humic acid by AFM and SEM.** Colloids and surface A: Physicochem. Eng. Aspects, 302; 121-125.
- Christman R., Gjessing E. T., (1983) **Aquatic and terrestrial humic materials.** ANN ARBOR SCIENCE. The butter worth group, EUA, chapter 16. 333-348 p.
- Clemete R., Bernal M. P. (2006) **Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids.** Chemosphere, 64;1264-1273.

- Corami F., Capodaglio G., Turetta C., Bragadin M., Calace M., Petronio B. (2007) **Complexation of cadmium and copper by fluvial humic matter and effects on their toxicity**. *Analytical Chemistry*. 97(1-2) 25-37.
- Cox P. A. (1995) **The Elements on Earth Inorganic Chemistry in the environment**. Oxford University Press USA.
- Crossgrove J., Zheng W. (2004) **Manganese toxicity upon overexposure**. *NMR IN BIOMEDICINE*, 17, 8; 544-553.
- Davidge J., Thomas C. P. Williams D. R. (2001) **Conditional formation constants or chemical speciation data?** *Chemical speciation and Bioavailability*, 13, 4; 129-134.
- Davis J. (1984) **Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter**. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48; 679-691.
- De Oliveira L., De Almeida M., Fernandes L., Kriese K., Rosa A. (2015) **Interaction of arsenic species with tropical river aquatic humic substances enriched with aluminium and iron**. *Environmental Science Pollution Research*. DOI: 10.1007/s11356-015-5816-5.
- De Paolis F., Kukkonen J. (1997) **Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: influence of pH and the structure of humic material**. *Chemosphere*, 34, 8; 1693-1704.
- Elkins K. M., Nelson D J. (2001) **Fluorescence and FT-IR spectroscopic studies of Suwanne river fulvic acid complexation with aluminum, terbium and calcium**. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 87; 81-96.
- Erickson R. J., Benoit D. A., Mattson V. R., Leonard E. N., Nelson H. P. (1996) **The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnow**. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15, 2; 181-193.
- Frimmel F. H., Hurber L., (1996) **Influence of humic substances on the aquatic adsorption of heavy metals on defined mineral phases**. *Environment International*. 22, 5; 507-517.
- Gaetke L. M., Kuang C. C. (2003) **Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients**. *Toxicology*, 189, 1-2; 147-163.
- Gavin C: E. Gunter K. K., Gunter T. E. (1999) **Manganese and calcium transport in mitochondria, implications for manganese toxicity**. *PubMed Central*, 20, 2-3; 445-453.
- Glaus M A., Hummel W., Van Loon L. R. (2000) **Trace metal-humate interactions. I experimental determination of conditional stability constants**. *Applied Geochemistry*, 15; 953-973.
- González E., Ahumada R., Medina V., Neira J., González U. (2004). **Espectrofotometría de absorción atómica con tubo en llama: aplicación en la determinación total de Cd, Pb y Zn en aguas continentales, agua de mar y sedimentos marinos**. *Quim. Nova*. 27, 6.
- Goveia D., Aparecida L. F., Burba P., Fernandes F., Dias F., Rosa A. H. (2010) **Approach combining on-line metal exchange and tangential-flow ultrafiltration for in-situ characterization of metal species in humic hydrocolloids**. *Analytical and, Bioanalytical Chemistry*, 397; 851-860.
- Gustafsson J. P. (2001), **Modeling the Acid-Base Properties and Metal Complexation of Humic Substances with the Stockholm Humic Model**. *Journal of Colloid and Interface Science*, 244, 1; 102-112.
- Hargrove W. L., Thomas G. W. (1982) **Conditional formation constants for aluminum-organic matter complexes**. *Journal of Soil Science*., 62; 571-575.

- Harris, D. C. (2007) **Análisis Químico Cuantitativo**. Edición en Español, 3ª ed. Ed. Reverté SA. Pp 189-211.
- Hiraide M. (1992) **Heavy metals complexed with Humic substances in fresh water**. Analytical Sciences 8; 453-459.
- Hirose K., Dokiva Y., Sugimura Y., (1982) **Determination of conditional stability constants of organic copper and zinc complexes dissolved in seawater using ligand exchange method with EDTA**. Marine Chemistry, 11; 343-354.
- Horiguchi T. (1988) **Mechanism of manganese toxicity oxidative and tolerance of plants**. Soil and Plant Nutrition, 34, 1; 65-73.
- Hughes M. F. (2002) **Arsenic and potential mechanisms of action**. Toxicology letters, 133, 1; 1-16.
- Huheey J. E., Keiter E. A., Keiter R. L. (2007) **Química inorgánica, principios de estructura y reactividad**. Alfaomega, Oxford University Press México S. A. de C. V., Traducido de la 4ª ed.
- Irving H., Williams R., (1953) **The stability of transition-metal complexes**. Journal of the Chemical Society. 3192-3210. DOI 10.1039/JR9530003192.
- John J., Salbu B., Gjessing E. T., Bjornstad H. E. (1988) **Effect of pH, humus concentration and molecular weight on conditional stability constants of cadmium**. Water Research, 22, 11; 1381-1388.
- Kalbitz K., Geyer S., Geyer W. (2000) **A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances**. Chemosphere, 40, 12; 1305-1312.
- Kalbitz K., Wennrich R. (1998). **Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland soils and its dependence on dissolved organic matter**. The Science of the Total Environment, 209; 27-39.
- Kaple A., Schink B., Brune A. (2001). **Dynamics in composition and size-class distribution of humic substances in profundal sediments of Lake Constance**. Organic geochemistry, 32;3-10.
- Kerndorff H., Schnitzer M. (1980) **Sorption of metals on humic acid**. Geochimica et Cosmochimica Acta, 44; 1701-1708.
- Krivácsy Z., Kiss G., Varga B., Galambos I., Sórvári Z., Gelencsér A., Molnár A., Fuzzi S., Facchini M. C., Zappoli S., Andracchio A., Abberg T., Hansson H. C., Persson L. (2000) **Study of humic-like substances in fog and interstitial aerosol by size exclusion chromatography and capillary electrophoresis**. Atmospheric Environment, 34, 25; 4273-4181.
- Kumar G. V., Nayak A., Agarwal S., Dobhal R., Prasad U. D., Singh P., Sharma B., Tyagi S., Singh R. (2012) **Arsenic speciation analysis and remediation techniques in drinking water**. Taylor & Francis, 40;231-243.
- Lagier T., Feuillade G., Matejka G. (2000) **Interactions between copper and organic macromolecules: determination of conditional complexation constants**. Agronomie, 20; 537-546.
- Laglera, L M., Van den Berg C. M. G. (2009) **Evidence for geochemical control iron by humic substances in seawater**. Limnology and Oceanography, 54 (2) 610-619.

- Lambert J., Buddrus J., Burba P. (1995) **Evaluation of conditional stability constants of dissolved aluminum/humic substance complexes by means of  $^{27}\text{Al}$  nuclear magnetic resonance.** Journal Analytical Chemistry 351; 83-87.
- Lippold H., Lippmann-Pipke J. (2009) **Effect of humic matter on metal adsorption onto clay material: Testing the linear additive model.** Journal of Contaminant Hydrology, 109; 40-48.
- Liter M. I., Armienta M. A., Farías S. S., (2009), **Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos.** 1ª ed. Ed. CYTED, Argentina, pp. 19-27.
- Liu A., González R. D.,(1999), **Adsorption/desorption in a System Consisting of humic acid, Heavy Metals and clay minerals.** Journal of Colloid and Interface Science. 218;225-232.
- Liu J., Wang J., Chen Y., Lippold H., Lippman-Pipke J. (2010) **Comparative characterization of two natural humic acids in the Pearl River Basin, China and their environmental implications.** Journal of environmental Sciences, 22, 11; 1695-1702.
- Livens F. R. (1991) **Chemical Reactions of Metals with Humic Material.** Environmental Pollution. 70;183-208.
- López-López E., Sedeño –Díaz J., Perozzi F. (2006) **Lipid peroxidation and acetylcholinesterase activity as biomarkers in the black Sailfin Goodeid, Girardinichthys viviparous (Bustamonte) exposed to water from Lake Xochimilco (Mexico).** Aquatic Ecosystem Health & Management, 9:3; 379-385.
- Macías Felipe, M. E. (2013) **Ultrafiltración: una técnica en la determinación de contaminantes ambientales.** Instituto de Geofísica. UNAM. Tesis de Licenciatura, pp 125.
- Mansuy L., Bourezgui Y., Garnier-Zarli E., Jardé E., Réveille V. (2001) **Characterization of humic substances in highly polluted river sediments by pyrolysis methylation-gas chromatography-mass spectrometry.** Organic geochemistry, 32,2;223-231.
- Mao J-D., Hu W-G.,Schmidt-Rohr, Davies G., Ghabbour E. A., Xing B. (2000), **Quantitative Characterization of Humic Substances by Soil-State Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance.** Alliance of Crop, Soil and Environmental Science Societies. 64,3;873-884.
- Margalef, R. (1983) Limnología. Ediciones omega S. A., España, pp 39-76.
- Martins F, A., Basso N, Hissler C., Mortatti J., (2012) **Mechanical erosion in a Tropical River basin in south-eastern Brazil: Chemical characteristics and annualfluvial transport mechanisms.** J Geological Research DOI:10.1155/2012/127109.
- McKnight D. M. y Aiken G. R. (1998) **Source and Age of Aquatic Humus.** Ecological studies. Springer-Verlag, Berlín Heidelberg.
- Miretzky P., Saralegui A., Fernández Cirelli. (2004) **Aquatic macrophytes potentil for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina).** Chemosphere, 57, 8; 997-1005.
- Motuzova G., Makarychev I., Dergham H., Stepanor A., BarsoraN. (2012) **Soil Organic Matter and its interactions with metals processes, factors ecological significance.** NOVA Science Publishers Inc., New York USA. 136pp.

- Munier-Lamy C., Adrian P H., Berthelin J., Rouiller J. (1986) **Comparison of binding abilities of fulvic and humic acids extracted from recent marine sediments with  $UO_2^{2+}$** . *Organic Geochemistry* 9, 6; 258-292.
- Nelson, D. M., Cox M. M. (2000) **Lenhinger:Principles of Biochemistry**. Worth Publishers, New York.
- Ninfant'eva T. I., Burba P., Fedorova O., Shkiner V. M., Spivakov B. Y. (2001) **Ultrafiltration and determination de Zn- and Cu- humic substances complexes stability constants**. *Talanta*. 53;1127-1131.
- Ninfant'eva T. I., Shkiner V. M. Spirakov B. Y., Burba P. (1999) **Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species a concise overview. Part 2. Evaluation of conditional stability constants by using ultrafiltration**. *Talanta*. 48;257-267.
- Oliver B. G., Thurman E. M. Malcolm R. L. (1983) The contribution of humic substances to the acidity of colorean natural waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 47; 2031-2035.
- Pandey, A. K., Pandey, S. D., Misra V. (2000). **Stability Constants of Metal-Humic Acid complexes and its Role in Environmental Detoxification**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 47;195-200.
- Pauling L. (1930) **The Rotational Motions of Molecules in Crystals**. *Physical Review* 36, 3; 430.
- Peña-Méndez E M., Havel J., Patocka J. (2005) **Humic substances-compounds of still unknown structure: applications in agricultura, industry, environment and biomedicine**. *Jornal of applied biomedicine*, 3;13-24.
- Peuraruori J., Pihlaja K. (1997) **Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances**. *Analytica Chimica Acta*. 337; 133-149.
- Piccolo A., Stevenson F. J. (1982) **Infrared spectra of  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  complexes of soil humic substances**. *Geoderma*, 27; 195-208.
- Pott D. B., Alberts J J., Elzerman A. W. (1985) **The influence of pH on the binding capacity and conditional stability constants of aluminum and naturally-occurring organic matter**. 48;293-304.
- Ramos B. R., García- Calderón NE., Ortega-Escobar HM, Krasilnokiv P. (2011) **Artificial Chinampas Soils of Mexico City: their properties and salinization hazards**. *Spanish Journal of Soil Science*, 1, 1;70-85. DOI <https://doi.org/10.3232/SJSS.2011.V1N1.05>
- Rangel WM, SchneiderJ , de Souza Costa ET , Sousa Soares CRF , Guimarães Guilherme LR y de Souza Moreira FM (2014) **Phytoprotective Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Species Against Arsenic Toxicity in Tropical Leguminous Species**, *International Journal of Phytoremediation*, 16:7-8, 840-858, DOI: 10.1080/15226514.2013.856852.
- Reuter J H. (1977) **Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters**. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 41; 325-334.
- Reveillé V., Mansuy L., Jardé E., Garnier-Sillam E. (2003) **Characterization of sewage sludge-derived organic matter: lipids and humic acids**. *Organic geochemistry*, 34;625-627.
- Rocha J. C., Rosa A., Alves C. A. (2009), **Introducao a química ambiental**, 2ª ed. Ed. Bookman, Brasil, pp 197-221.

- Rocha J. C., Toscano A. S., Burba P. (1997) **Lability of heavy metal species in aquatic humic substances characterized by ion exchange with cellulose phosphate.** *Talanta*. 44;69-74.
- Rocha, J. C., De Sene J. J., Dos Santos A., Toscano I., Zara L. F. (2000) **Aquatic humus from an unpolluted Brazilian dark-brown stream: general characterization and size fractionation of bound heavy metals.** *Journal Environmental Monitoring* 2; 39-44.
- Rocha R. A, Robles V. E, Ramírez-Flores E (2014) **Invasive alien species water hyacinth *Eichhornia crassipes* as abode for macroinvertebrates in hypertrophic Ramsar Site, Lake Xochimilco, México.** *TEB*, 35, 6; 1071-1080.
- Rudd T., Sterritt R. M., Lester J. N. (1984) **Formation and conditional stability constants of complexes formed between heavy metals and bacterial extracellular polymers.** *Water Research.*, 18, 3; 379-384.
- Ryan D K., Weber J H. (1982) **Fluorescence Quenching titration for determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid.** *Analytical Chemistry* 54; 986-990.
- Saar R. A., Weber J. H. (1980) **Lead (II)-Fulvic Acid Complexes. Conditional stability constants, solubility and implications for lead (II) mobility.** *American Chemical Society*, 14, 7; 877-880.
- Sachs S., Bernhard G. (2011) **Humic acid model substances with pronounced redox functionality for the study of environmentally relevant interaction processes of metal ions in the presence of humic acid.** *Geoderma*, 162; 132-140.
- Schmitt-Kopplin P., Burhenne J., Freitag D., Spiteller M., Kettrup A. (1999) **Development of capillary electrophoresis methods for the analysis of fluoroquinolones and application to the study of the influence of humic substances on their photodegradation in aqueous phase.** *Journal of Chromatography A.*, 837;253-265.
- Schwarzenbach R. P., Escher B. I., Fenner K., Hofstetter T. B., Johnson C. A., Von Gunten U., Wehrli B., (2006) **The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems** *Science*, 313, 5790; 1072-1077.
- Sharma VK, Sohn M. (2009) **Aquatic Arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation.** *Environment International*. 35, 743-759.
- Shi H., Shi X., Liu K. J. (2004) **Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis.** *Molecular and cellular Biochemistry*, 255; 67-78
- Shuman M. S., Cromer J. L. (1979) **Copper association with aquatic fulvic and humic acids. Estimation of conditional formation constants with a trimeric anodic stripping.** *American Chemical Society*, 13, 5; 543-545.
- Souza-Júnior, V. S. D., Vidal-Torrado, P., Garcia-González, M. T., Otero, X. L., & Macías, F. (2008). **Soil mineralogy of mangrove forests from the state of São Paulo, southeastern Brazil.** *Soil Science Society of America Journal*, 72(3), 848-857.
- Sposito Garrison (1981) **Trace metals in contaminated waters.** *Environmental. Science & Technology* 4; 396-403.
- Stevenson F. J., Goh K. M. (1971), **Infrared spectra of humic acids and related substances.** *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 35; 471-483.

- Thurman E. M., Wershaw R. L. Malcolm R. L., Pincney D. J., (1982) **Molecular size of aquatic humic substances**. Organic Geochemistry, 4; 22-35.
- Tipping E. (1998) **Humic Ion-Binding Model VI: An Improved Description of the Interactions of Protons and Metal Ions with Humic Substances**. Aquatic Geochemistry. 4;3-48.
- Tipping E. (2005) **Modeling Al competition for heavy metal binding by dissolved organic matter in soil and surface waters of acid and neutral pH**. Geoderma, 127; 293-304.
- Tipping E., Hurley M. A., (1992) **A unifying model of cation binding by humic substances**. Geochimica et Cosmochimica, 56; 3627-3641.
- Tipping E., Rey-Castro C., Bryan S. E., Hamilton-Taylor J. (2002), **Al and Fe binding by humic substances in freshwaters**. Geochimica et Cosmochimica, 66, 18; 3211-3224.
- Town R. M. (2008) **Metal binding by heterogeneous ligands: kinetic master curves from SSCP Waves**. Environmental. Science & Technology 42;4014-4021.
- Town R M., Chakraborty P., Van Leeuwen H. P. (2009) **Dynamic DGT speciation analysis and applicability to natural heterogeneous complexes**. Environmental. Chemistry 6; 170-177.
- Van den Berg (1984) **Determination of the complexing capacity and conditional stability constants of complexes of copper (II), with natural organic ligands in seawater by cathodic stripping voltammetry of copper-catechol complex ions**. Marine Chemistry, 15; 1-18.
- Van den Bergh J., Jakubowski B, Burba P., (2001) **Investigations on the conditional kinetic and thermodynamic stability of aquatic humic substance-metal complexes by means of EDTA exchange, ultrafiltration and atomic spectrometry**. Talanta, 55; 587-593.
- Vogl J., Heumann K. G., (1997) **Determination of heavy metal complexes with humic substances by HPLC/ICP-MS coupling using on-line isotope dilution technique**. Fresenius Journal Analytical Chemistry 359;438-441.
- Weber J. H., Wilson S. A. (1975) **The isolation and characterization of fulvic acid and humic acid from river water**. Water Research, 9; 1079-1084.
- Wershaw R. (1986) **A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems**. Journal of Contaminant Hydrology, 1;29-45.
- Wetzel, R.G. (2001) **Limnology. Lake and River Ecosystems**. 3a ed. Ed Elsevier. USA. Pp.291-309.
- Witter A. E., Hutchins D. A., Butler A., Luther III G. W. (1999) **Determination of conditional stability constants and kinetic constants for strong model Fe-binding ligands in seawater**. Marine Chemistry, 69; 1-17.
- Vogl J., Heumann K. G., (1997) **Determination of heavy metal complexes with humic substances by HPLC/ICP-MS coupling using on-line isotope dilution technique**. Fresenius Journal. Analytical Chemistry 359;438-441.
- Wood S. A(1996) **The role of humic substances in the transport and fixation of metals of economic interest (Au, Pt, Pd, U y V)**. Ore Geology Reviews,11;1-31.

- Xue H., Kistler D., Sigg L. (1995). **Competition of copper and zinc for strong ligands in a eutrophic lake.** *Limnology and Oceanography*, 40, 6; 1142-1152.
- Yang R., Van den Berg C. M.G. (2009) **Metal complexation by Humic Substances in seawater.** *Environmental Science and Technology* 43, 7192-7197.
- Zaccone C., Soler-Rovira P., Plaza C., Cocozza C., Miano T. M. (2009) **Variability in As, Ca, Cr, K, Mn, Sr and Ti concentrations among humic acids isolated from peat using NaOH, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> and NaOH+ Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> solutions.** *Journal of Hazardous Materials*. 167;987-994.
- Zhang Y., Zhang F., Yu Y., Zhang J., (2011) **Chemical characterization of humic substances isolated from mangrove swamp sediments: The Qinglan area of Hainan Island, China.** *Estuarine, coastal and shelf science*, 93;220-227.
- Zhou P., Yan H., Gu B.(2005) **Competitive complexation of metal ions with humic substances.** *Chemosphere*. 58; 1327-1337.

<http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/ab482s04.htm> (08/08/2015)

<http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cu.htm> (10/10/2014)

4)

<http://www.lenntech.es/periodica/elementos/mn.htm> (10/10/2014)