



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**“Caracterización de ácidos húmicos de suelos regados por diferentes periodos tiempo con agua residual”**

**Tesis**

Que para obtener el grado en

**Licenciado en Biología**

**Presenta:**

Berenice García Martínez

**Directora:**

Dra. Lucy N. Mora Palomino



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Estado de México, 2017.



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.

## *Dedicatoria*

No hay mayor orgullo y satisfacción que el haber realizado esta tesis, pues no solo representa el término de un documento, esta tesis me ha enseñado que siempre se tendrá miedo a dar el siguiente paso, pero si sigues adelante aunque dudes de ti mismo habrá valido la pena.

Quiero dedicarle esta tesis a mi familia. A mis hermanas Tania y Gaby y a mi tía Catalina, por su apoyo y ánimos para terminar con este proyecto. A mi sobrino Diego, a quien espero que sea un ejemplo para que él también persevere en sus estudios. A mi madre y abuelita por apoyarme siempre anteponiéndose incluso a ellas mismas. Quiero que sepan que son un ejemplo de lucha constante ante los obstáculos, pues no hay mujeres a quienes admire más.

Agradezco de igual modo a mis amigos de laboratorio (Arturo, Ingrid, Cayetano, Caro, Luis, Manuel) quienes siempre estuvieron en disposición de enseñarme, y quienes me aconsejaron y animaron en otros proyectos. Les doy gracias a cada uno por esos buenos ratos con ustedes.

A mis amigas Ana, Evelyn, Laura y Cabañas, quienes hemos pasado por muchas experiencias juntas desde la Universidad y a quienes considero parte de mi familia. Gracias chicas por esos momentos.

A mi tutora Lucy Mora y a Bruno. Gracias por su infinita paciencia y por sus palabras de aliento; sé que no fue fácil que terminara con esta tesis, por lo que quiero agradecerles que hayan confiado en mí. También a mis sinodales Francisco, Mayra y Rafael, les agradezco su paciencia y comprensión.

Al amor de mi vida, Mario. Gracias por estar ahí siempre a mi lado, por hacerme reír y por brindarme un abrazo cuando más lo necesitaba, por animarme aun cuando yo no tenía ánimos. Por confiar en mí siempre. Te lo agradezco infinitamente.

# Índice

---

1.-Introducción.....	4
2.-Antecedentes.....	6
3.-Marco teórico.....	9
3.1 Valor ambiental del suelo.....	9
3.2 Definición de la Materia Orgánica del Suelo.....	10
3.3 Funciones de la Materia Orgánica del Suelo.....	12
3.3.1 Factores que afectan a la Materia Orgánica.....	12
3.4 Transformación de la Materia Orgánica.....	14
3.4.1 Mineralización.....	14
3.4.2 Humificación.....	16
3.5. Composición de las Sustancias Húmicas.....	17
3.6 Extracción de las Sustancias Húmicas.....	19
3.7 Caracterización de las Sustancias Húmicas.....	21
3.7.1 interpretación de espectros.....	22
4.-Objetivos.....	26
5.-Hipótesis.....	26
6.-Metodología.....	27
6.1.-Zona de estudio.....	27
6.2.-Diseño experimental.....	30
6.3.-Métodos analíticos.....	31
6.3.1 Análisis de suelo.....	31
6.3.2 Extracción de ácidos húmicos.....	32
6.3.3 Análisis de ácidos húmicos.....	33
6.4. Análisis de resultados.....	34
7.-Resultados.....	35
7.1 pH y Conductividad.....	35

7.2 Carbono orgánico total.....	35
7.3 Relación (E4/E6).....	36
7.4 Composición elemental.....	37
7.5 Espectros infrarrojos.....	39
7.5.1 Descripción de bandas.....	39
8.-Discusión.....	45
9.-Conclusiones.....	53
10.- Anexo.....	54
11.- Bibliografía.....	56

## Índice de tablas y figuras

Figura 1. Principales bandas de un espectro infrarrojo.....	23
Figura 2. Espectro infrarrojo y segunda derivada de un ácido húmico.....	24
Figura 3. Localización del área de estudio.....	26
Figura 4. Distribución de la vegetación en el Valle del Mezquital en relación a la altitud.....	27
Figura 5. Esquema que muestra la distribución de los tipos de suelo dominantes en la zona de estudio.....	28
Figura 6. Croquis del prototipo de las parcelas muestreadas por Siebe (1990) y Chapela (2011).....	29
Figura 7. Diagrama de Extracción y análisis de laboratorio realizados.....	32
Figura 8. Porcentaje de Carbono orgánico en Ah de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.....	35
Figura 9. Densidades ópticas (E4/E6) de Ah de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.....	35
Figura 10. Porcentaje de C en Ah purificados de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.....	37
Figura. 11 Porcentaje de N en Ah purificados de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.....	37
Figura. 12 Espectros infrarrojos de Ah del Leptosol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).....	40
Figura. 13 Segunda derivada de Ah del Leptosol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).....	41
Figura. 14 Espectros infrarrojos de Ah del Vertisol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).....	42
Figura. 15 Segunda derivada de Ah del Vertisol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).....	45
Tabla 1. Propiedades químicas de las sustancias húmicas.....	18
Tabla 2. Localidades, tipo de suelo y años bajo riego de los sitios de muestreo <sup>34</sup>	
Tabla 3. Valores promedios de pH y Conductividad eléctrica.....	36
Tabla 4. Tabla general de picos de absorción encontrados en los Ah extraídos de suelos Leptosol y Vertisol regados con agua residual.....	53

# 1

---

## Introducción

Desde 1912, las aguas residuales provenientes de la Ciudad de México han sido utilizadas para el riego de los campos del Valle del Mezquital. Esta práctica ha planteado una solución eficiente y barata al problema de gestión de las aguas de desecho de la Ciudad de México (Siebe, 1995). Además, el reciclaje de estas aguas ha permitido aumentar la productividad de los cultivos en el Valle del Mezquital dado a su alto contenido de carbono orgánico de residuos orgánicos fácilmente biodegradables, lo que ha reforzado su uso en suelos donde las condiciones semi áridas, las altas temperaturas del verano, la escasez del agua, y las prácticas de cultivo intensivas, aceleran los procesos de erosión del suelo (Albiach *et al.*, 2001; Hussain *et al.*, 2002; Dunjón *et al.*, 2003).

No obstante, el reciente establecimiento de industrias en el Valle de México, sumado a la falta de tratamiento de estas aguas, plantea una serie de inconvenientes y restricciones para uso del agua residual ya que esto favorece la acumulación de metales pesados, sales, y surfactantes en los suelos, la contaminación del agua subterránea y el incremento en la frecuencia de enfermedades gastrointestinales (Siebe, 1994; Siebe y Cifuentes, 1995; Gutiérrez-Ruíz, *et al.*, 1995; Jiménez y Landa, 1998). El vertido de grandes cantidades de aguas residuales sin un tratamiento previo puede provocar, además, una alteración en la dinámica de los procesos de mineralización y humificación modificando la cantidad y calidad de la materia orgánica original del suelo (Almendros y Hernández, 2009). Esto hace necesario que el estudio de la calidad de la materia orgánica sea clave para entender las variaciones en sus propiedades químicas, así como los procesos asociados a su transformación, con el tiempo después de su aplicación al suelo. Por lo que el estudio de la composición de los compuestos orgánicos tiene gran importancia para la toma de decisiones en la elección del destino que se le va a dar a los mismos.

En este sentido, las fracciones de la materia orgánica como son las sustancias húmicas, pueden llegar a ejercer un papel importante como indicadores de los cambios efectuados en el funcionamiento del ecosistema edáfico dado que

participan y reflejan la mayoría de los procesos físicos, químicos y biológicos del suelo (Senesi *et al.*, 2007; Almendros y Hernández, 2009). Técnicas como el análisis elemental de grupos funcionales y espectroscopia visible e infrarroja, han sido utilizados como pautas para evaluar la evolución y modificación de la materia orgánica (Senesi *et al.*, 2007; Senesi y Plaza, 2007; Almendros y Hernández, 2009). El estudio de las sustancias húmicas ayuda a detallar la estructura química y permite observar el efecto que tiene la adición de compuestos orgánicos sobre la fracción de ácidos húmicos, permitiéndonos lograr un mejor entendimiento de la modificación cualitativa que presenta esta fracción.

Existen pocos estudios que han estudiado los efectos de la aplicación de compuestos orgánicos sobre el estado y calidad de las sustancias húmicas originales del suelo en largos periodos de tiempo (Senesi *et al.*, 1996). Por ello, y con el fin de contribuir a los estudios de la dinámica de la materia orgánica del suelo, el principal objetivo de este trabajo fue caracterizar y comparar el cambio estructural de la fracción de ácidos húmicos de los suelos Leptosol y Vertisol regados por diferentes periodos de riego con agua residual.



## Antecedentes

La adición de efluentes provenientes de la Ciudad de México sobre los suelos del Valle del Mezquital, Hidalgo, ha sido motivo de diversas investigaciones. Se ha relacionado la aplicación de estos residuos sobre suelos agrícolas con una mejora de las propiedades físicas, químicas y biológicas (Fernández *et al.*, 2012). También se han estudiado los efectos nocivos, como la presencia de metales pesados (Siebe, 1994; Vásquez *et al.*, 2001; Prieto-García *et al.*, 2007; Chapela, 2011), contaminantes orgánicos, y microorganismos patógenos (Jímenez y Landa, 1998). Sin embargo, pese a que el ingreso de grandes cantidades de carbono supone una mejoría en las propiedades edáficas, la adición de compuestos orgánicos puede modificar los rasgos químicos de la materia orgánica del suelo original (Almendros y Hernández, 2009). Debido a que los ácidos fúlvicos y huminas son difíciles de aislar y de purificar en el laboratorio para obtener material representativo sin alterar, la mayor parte de los estudios sobre sustancias húmicas se han centrado tradicionalmente en los ácidos húmicos (Ah). Esta fracción tiene un origen complejo y una estructura macromolecular que depende tanto de los materiales de partida como de las condiciones ambientales. En líneas generales, incluye estructuras alifáticas (O-alquílicas y alquílicas), dominios aromáticos, y grupos oxigenados en superficies con diversas reactividades (Almendros y Hernández, 2009).

Diferentes estudios han indicado que la adición de residuos orgánicos a través de los años de riego puede promover cambios sobre la composición de las sustancias húmicas, principalmente en la fracción de Ah, influyendo en las formas de carbono, en función de su composición y la dosis de aplicación (Stevenson, 1994). De acuerdo con un estudio comparativo de los resultados recientemente obtenidos por varios trabajos sobre el efecto de las enmiendas orgánicas en las sustancias húmicas del suelo realizado por Senesi y Plaza (2007), en la mayoría de los trabajos se ha observado que ocurren cambios en la composición estructural de esta sustancia por el uso de enmiendas en el suelo, entre los que destacan: el incremento en el carácter alifático, mismo que se refleja por el aumento en el contenido de C y H dentro de la estructura de Ah, provocados por la adición de residuos fácilmente degradables y estructuras de tipo polisacáridos.

Asimismo, se ha encontrado que el efecto de la adición de enmiendas al suelo suele variar con las prácticas agrícolas modificando las características estructurales de los Ah originales. Por ejemplo, Piccolo y colaboradores (1992), observaron que las sustancias húmicas extraídas de suelos adicionados con lodos tratados anaeróbicamente generados a partir de combinaciones de desechos industriales y civiles produjeron, en un periodo de 4 años, un mayor contenido de Ah, alcanzado un rendimiento de 200% con respecto a los suelos sin tratar, comparado con los suelos tratados con estiércol de ganado el cual no tuvo un incremento significativo. Asimismo, observaron que los suelos tratados con lodos presentaron un mayor contenido de C, relación C/N, y contenido de grupos carboxílicos y fenólicos, además de una menor relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>, indicando que los ácidos húmicos derivados de suelos tratados con lodos residuales son más humificados que los ácidos húmicos de suelos enmendados con estiércol. Esto es confirmado en el espectro infrarrojo el cual presenta un alto contenido de grupos alifáticos y componentes nitrogenados. Del mismo modo, Pedra *et al.*, (2008), observaron que la aplicación de desechos sólidos municipales compostados y lodos residuales en suelos arenosos y arcillosos, incrementaron los contenidos de C, N, H, y S, y las relaciones E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>; mientras que disminuyeron los contenidos de O, COOH, OH fenólicos, acidez total, y las relaciones C/N, C/H y C/O de los ácidos húmicos del suelo. Así también, el grado de madurez del material adicionado puede inducir cambios en las fracciones de la materia orgánica del suelo. Senesi *et al.*, (1996), observaron que la adición de lodos residuales compostados al suelo muestra contenidos de N e H menores, y relaciones C/N y C/H, además de contenidos de grupos carboxilo y carbonilo mayores que aquellos suelos sin compostar. Indicando una parcial pérdida de grupos nitrogenados y anillos alifáticos lo que podría llevar a su modificación estructural, favoreciendo el transporte y/o fijación de contaminantes y nutrientes.

Estudios sobre la adición de material orgánico fresco, como son las aguas residuales en el Valle del Mezquital, resultan escasos. Algunos trabajos han mostrado que la adición de aguas negras ha cambiado la composición química de las fracciones de la materia orgánica del suelo. Sánchez (2008) evaluó los cambios producidos por la adición de aguas residuales en la calidad de la materia orgánica disuelta (MOD). En éste trabajo, observó que el ingreso de aguas negras al suelo modificó la calidad de la MOD, disminuyendo en el caso del Leptosol, la reactividad

y estructura, semejándose a la MOD del agua residual después de 100 años de riego. Mientras que en el Vertisol la reactividad de la MOD incrementó y logró ser semejante a la MOD del agua residual después de 40 años de riego. Por otra parte, Herre y colaboradores en 2004, estudiaron el efecto prologando del riego sobre la calidad de la materia orgánica en los suelos de tipo Vertisol y Leptosol del Valle del Mezquital. La comparación entre suelos mostró que la mineralización del carbono orgánico disuelto fue mayor en el Leptosol que en el Vertisol. Además, la mineralización de C es mayor en suelos que han sido regados por más tiempo que en suelos que jamás han sido regados. Concluyendo que la adición continúa de aguas residuales ha alterado la calidad de la materia orgánica.

No obstante, pese a que diversos estudios han considerado los efectos de la adición del C orgánico sobre las propiedades físicas y químicas del suelo, solo un limitado número de investigaciones han detallado sobre los efectos a corto, y más aún, a largo plazo, después de la adición de enmiendas orgánicas sobre el estado y calidad de las sustancias húmicas del suelo (Senesi *et al*, 1996). De entre ellos, Adani y Tambone (2005), observaron que la aplicación de lodos residuales durante 10 años mostró un efecto sobre el análisis elemental, espectroscopia infrarroja, y resonancia magnética nuclear, revelando una fuerte contribución de los lodos sobre los Ah de los suelos.

---

## Marco Teórico

### 3.1 Valor ambiental del Suelo

El suelo es un cuerpo natural, no consolidado, compuesto por sólidos, líquidos y gases, que se caracteriza por tener horizontes o capas diferenciales, y cuyo espesor puede ir desde la superficie terrestre hasta varios metros de profundidad (Volke *et al*, 2005). Es considerado como un sistema dinámico y abierto, cuya formación requiere de las adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de energía y materia a través de largos periodos de tiempo (Cruz *et al*, 2002; Volke *et al*, 2005). Factores como el tipo de material geológico del cual se origina, la cubierta vegetal, el tiempo en el que ha actuado la meteorización, la topografía, y los cambios artificiales resultantes de las actividades humanas, determinan su composición química y estructura física actual (Siebe *et al*, 2003; Volke *et al*, 2005).

Aunque el suelo únicamente abarca una proporción pequeña de la corteza terrestre, este cumple con importantes funciones en los ecosistemas. I) Regula la actividad biológica y el intercambio molecular entre las fases sólida, líquida y gaseosa, lo que afecta el ciclo de los nutrientes a través del crecimiento de las plantas y la descomposición de los materiales orgánicos. II) Proporciona una matriz física y un ambiente químico y biológico para el intercambio de agua, aire, nutrientes y de calor que los organismos vivos requieren. III) Es un elemento filtrante, amortiguador y transformador, que regula el ciclo del agua y los ciclos biogeoquímicos. IV) Tiene la propiedad de retener mecánicamente o fijar sustancias por absorción, contribuyendo a la protección de aguas subterráneas y superficiales contra la penetración de agentes nocivos. V) Además promueve fenómenos de evotranspiración o transpiración del aire a través de la superficie (Cruz *et al*, 2002; Siebe *et al*, 2003; Volke *et al*, 2005).

Por lo anterior, el suelo es un recurso natural de vital importancia para la humanidad dado que es el sustrato que soporta las actividades agrícolas, pecuarias, recreativas y forestales, así como la infraestructura urbana, de caminos y de depósito. No obstante, las prácticas inadecuadas de manejo del suelo han llevado a la degradación de este recurso en áreas extensas a nivel global (Siebe *et al*, 2003). La calidad de un suelo, la cual es definida por la Soil Science Society of

America Journal, como “la capacidad de un tipo específico de suelo para, dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad vegetal y animal, mantener o aumentar la calidad del aire y del agua, y soportar la habitación y la salud humana” (Karlen *et al*, 1997), puede verse afectada negativamente por la degradación (Bautista *et al*, 2004). Es por ello que el conocimiento de sus propiedades y funciones es primordial para definir sus usos potenciales y establecer las prácticas de manejo adecuadas que permitan llevar a cabo un aprovechamiento óptimo de este recurso, así como satisfacer las necesidades presentes e incrementar la productividad en términos de la capacidad de resistencia y existencia para las demandas futuras (Lal, 1994; Cruz *et al*, 2002; Siebe *et al*, 2003).

### **3.2 Definición de la Materia orgánica del suelo**

El concepto, “Materia Orgánica del Suelo” (MOS) ha variado ampliamente y ha generado debates sobre el empleo de la terminología adecuada, lo cuál indica la diversidad de opiniones sobre el uso correcto del término de materia orgánica del suelo así como de su naturaleza y sus funciones (Kumada, 1987; Tan, 2003; Manlay *et al*, 2007).

Algunas de las definiciones empleadas para describir la materia orgánica de suelo se centran en la materia orgánica muerta presente en el suelo; lo que muestra dificultades de interpretación, al considerar a los organismos vivos, particularmente a la macrofauna edáfica (Tan, 2003). Un ejemplo de ello es la definición dada por Hayes y Swift (1990), quienes definen a la materia orgánica del suelo como los componentes no vivos, los cuales son una mezcla heterogénea compuesta en gran parte por los productos resultantes de la transformación química y microbiana de detritos orgánicos (Kumada, 1987).

Así mismo, el término de MOS se ha intercambiado o incluso a veces sustituido por términos como Humus, sustancias húmicas, material húmico, o sustancias orgánicas descompuestas de coloración oscura (Tan, 2003; Manlay *et al*, 2007). Además, la proliferación de nombres acrónimos como materia orgánica del suelo, materia orgánica total, y materia orgánica disuelta, también ha dificultado la interpretación de los mismos (Tan, 2003).

Algunos autores creen que el término MOS no ha tenido una definición exacta, sino más bien, presenta su origen en un término aun más antiguo, el *Humus*

(Manlay *et al*, 2007). Ésta es tal vez la razón de porqué algunos autores utilizan intercambiamente ambos términos, tal es el caso de Kumuda (1987). Del mismo modo, el concepto de *Humus* difiere entre algunos autores, por ejemplo: Sheffer y Ulrich (1960), así como Kononova (1982) definen al *Humus* como la totalidad de restos postmortem presentes en el suelo; y McLaren y Peterson (1969) lo describen como el conjunto de aquellos componentes difícilmente mineralizables que se acumulan en el suelo. Mientras que Tan (2003), considera al *Humus* como una mezcla de material no humificado y humificado (Fassbender, 1994).

La *Soil Science Society of America* define al humus como “la fracción más o menos estable de la materia orgánica del suelo, que se obtiene después que se ha descompuesto la mayor parte de las sustancias vegetales y animales añadidas al suelo”. Mientras que a la materia orgánica del suelo la define como la: “fracción orgánica del suelo que incluye residuos vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células de organismos que viven en el suelo y sustancias producidas por los habitantes” (Werner y Bornemisza, 1987). No obstante, varios autores concuerdan con la definición hecha por Stevenson (1994), quién considera a la materia orgánica del suelo como “el total de los componentes orgánicos en el suelo exclusivos de tejidos de plantas y animales sin degradar, sus productos, parcialmente descompuestos, y la biomasa del suelo” (Tan,2003).

Por otro lado, el concepto de sustancias húmicas también se ha presentado de manera confusa con el término *Humus*. El uso del término de *Humus* es sugerido por Page (1930), quien lo utiliza para referirse a la materia húmica y materia no húmica; mientras que Waksman (1938) propuso el nombre de *Humus* para referirse solo a las sustancias húmicas. Aparentemente tanto la propuesta de Waksman en conservar el nombre de *Humus* y la idea de Page de distinguirla en materia húmica y no húmica han sido unidas para desarrollar lo que hoy conocemos como *Humus*. De esta manera el *Humus* puede ser dividido en sustancias no húmicas y húmicas, las cuales, en éste último caso, se pueden dividir en varias fracciones: ácidos húmicos (Ah), ácidos fúlvicos (Af) y huminas (Hu) (Kumada, 1987; Tan, 2003).

Por lo anterior se puede considerar que el *Humus* es parte de, pero no igual, a la materia orgánica del suelo. Del mismo modo, las sustancias húmicas

componen, en mayor medida al *Humus*, mientras que la fracción no humificada está usualmente presente en menor cantidad. Es por ello que en el presente trabajo se abordará a la MOS como la define Stevenson (1994), mientras que el término de *Humus* y sustancias húmicas se utilizarán como términos separados de acuerdo a las opiniones de Kumuda (1987) y Tan (2003), los cuales se definirán en el capítulo de Evolución de la materia orgánica del suelo.

### **3.3 Funciones de la Materia Orgánica del Suelo**

La materia orgánica tiene funciones esenciales desde el punto de vista biológico, físico y químico del suelo. Su influencia sobre muchas de las características físico-químicas en el suelo afecta los procesos ecológicos, ejerciendo un papel importante en la salud y calidad del suelo (Robert, 2002). Algunas de las propiedades del suelo que son afectadas por la materia orgánica incluyen: la estructura del suelo, la capacidad de retención de humedad, y la diversidad y actividad de los organismos en el suelo (Bot y Benites, 2005).

Así mismo, la cantidad y calidad de la materia orgánica influyen en el ciclo de nutrientes al mejorar la retención de cationes, con lo cual se conservan los nutrientes en forma orgánica, y se regula, a través de la mineralización, la liberación de los nutrientes requeridos para el consumo y crecimiento de plantas, lo que permite que se incremente la fertilidad del suelo, y desde el punto de vista agronómico, reduce la necesidad de fertilizantes (Bot y Benites, 2005). Es por ello, que la materia orgánica de suelo ha sido considerada como un indicador clave de la calidad del suelo, tanto en sus funciones agrícolas (p. ej. producción y economía) como en sus funciones ecológicas (Carter, 2002; Robert, 2002).

#### **3.3.1. Factores que afectan la Materia Orgánica del Suelo**

Uno de los principales factores que afecta la acumulación de la materia orgánica del suelo es su velocidad de descomposición, la cual está regulada por la actividad de la biota edáfica (Bot y Benites, 2005).

La temperatura y la humedad controlan la tasa de descomposición de la materia orgánica. En los trópicos, el incremento de la temperatura y la precipitación media anual aceleran la descomposición de los residuos orgánicos y por lo tanto la liberación de nutrientes hacia el suelo. Esto eleva la producción de biomasa vegetal en el suelo lo que provee más residuos y por lo tanto más alimento para la biota

del suelo, contrario a los climas fríos en los cuales comúnmente hay más materia orgánica debido al lento grado de mineralización. No obstante, debido a que la actividad biológica requiere aire y humedad óptimos, periodos de saturación de agua llevarían a una pobre aireación, reduciendo el grado de mineralización tan pronto los organismos comiencen a inactivarse o mueran (Bot y Benites, 2005).

La topografía donde se desarrollan los suelos es también un factor importante que influye en el contenido de materia orgánica. Regularmente los suelos con pendientes fuertes sufren una mayor escorrentía y presentan menos agua disponible para las plantas. De esta manera, parte de la materia orgánica se pierde en la parte superior y el resto es transportado al pie de la pendiente a través de la lluvia ó la erosión donde hay condiciones más húmedas, lo que permite la acumulación de materia orgánica en el fondo de estas (Bot y Benites, 2005).

La acumulación de la materia orgánica depende en gran medida de la cantidad y calidad de materia orgánica que se adiciona al suelo y esta a su vez depende de la fisiología de las especies que la formaron. La adición de material soluble y fácilmente degradable como celulosas, almidones y proteínas permite que la degradación sea más rápida. En condiciones de cultivo, la adición de estiércol, abono verde, lodos residuales, y en general residuos orgánicos en la superficie del suelo, estimula el desarrollo de la actividad de los microorganismos acelerando el proceso de descomposición. Por el contrario, constituyentes de plantas como son lignina y otros polifenoles, retardan la descomposición permitiendo la acumulación de materia orgánica y la formación de humus, lo cual incrementa el potencial para mejorar el desarrollo de la estructura del suelo (Bot y Benites, 2005).

Propiedades físicas como la mineralogía del suelo y el tamaño y distribución de partículas influyen también en la cantidad de materia orgánica en el suelo (Carter, 2002). En general, la materia orgánica tiende a aumentar con el incremento en el contenido de arcilla debido a que los enlaces entre la superficie de las partículas de arcilla y la materia orgánica incrementan el potencial para formar agregados, lo que retarda el proceso de descomposición, protegiéndolos físicamente del ataque microbiano (Bot y Benites, 2005). Sin embargo, la capacidad del suelo para proteger y acumular la materia orgánica del suelo en compuestos órgano minerales no tiene siempre una relación positiva con el contenido de arcilla y limo (Carter, 2002). En suelos con alto contenido de arcillas caoliníticas, como los que se presentan en suelos tropicales, estas interacciones son difíciles de dar debido a que



contienen una pequeña superficie específica y capacidad de intercambio, definido por las cargas eléctricas superficiales, es baja; lo que provoca que las sustancias húmicas lábiles no sean protegidas, siendo vulnerables a descomponerse bajo condiciones adecuadas de humedad. Así, los altos niveles de materia orgánica son difíciles de mantener en suelos caoliníticos. Asimismo, la textura permite que los suelos arenosos almacenen menos agua y en consecuencia la vegetación que soportan, tiende a menos que la de suelos arcillosos (Thompson y Troeh, 1988).

Químicamente, la materia orgánica también es modificada por factores como valores de salinidad, toxicidad y pH (ácida o alcalina) extremos. En suelos fuertemente ácidos o alcalinos, el crecimiento de las condiciones para microorganismos es pobre, resultando en niveles bajos de la oxidación biológica de la materia orgánica.

### **3.4. Transformación de la Materia Orgánica del Suelo**

Los diferentes compuestos orgánicos que conforman los residuos de plantas y animales son transformados gradualmente a través de una serie de procesos de reducción estructural de las moléculas orgánicas (despolimerización) hasta compuestos orgánicos simples con la concurrente liberación de energía y, nutrientes en formas inorgánicas (Robert, 2002).

Las formas inorgánicas son directamente asimiladas por los microorganismos y plantas, mientras que la materia orgánica restante puede ser estabilizada a través de procesos físicos y químicos o seguir en el proceso de descomposición (Bot y Benites, 2005). La transformación de materiales orgánicos muertos hasta formas inorgánicas asimilables es derivado del balance entre tres procesos simultáneos: la despolimerización, la mineralización y la humificación, en los cuales los compuestos resultantes difieren en estructura y composición químicas con respecto de los componentes orgánicos originales (Kumada, 1987; Bot y Benites, 2005; Julca-Otiniano *et al*, 2006).

#### **3.4.1 Mineralización**

La mineralización es el proceso catabólico a través del cual los elementos contenidos en forma orgánica (como C, N, S, P) son convertidos a formas inorgánicas ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) (Zech *et al.*, 1997).

El proceso inicia cuando los residuos de plantas y organismos son incorporados al suelo (Bot y Benites, 2005). La acción de microorganismos como bacterias, hongos, protozoos y algas, así como de la fauna edáfica (ácaros, insectos, lombrices, etc.), fragmenta los residuos frescos y las estructuras de carbono, acelerando fuertemente el catabolismo y la lixiviación de los residuos, transformando así bioquímicamente las moléculas orgánicas complejas en moléculas orgánicas e inorgánicas simples (Zech *et al.*, 1997; Bot y Benites, 2005; Julca-Otiniano *et al.*, 2006). Los productos de la mineralización son liberados en forma de energía, agua, nutrientes y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) mientras que los compuestos orgánicos que no han sido mineralizados son incorporados al tejido microbiano, y el resto es preservado y/o acumulado en forma de sustancias húmicas en el suelo (Tipping, 2002; Bot y Benites, 2005).

Otro elemento que está ligado al proceso de mineralización es el N, el cual, en contraste con la liberación de C como CO<sub>2</sub>, es conservado la mayor parte durante todo el proceso (Stevenson y Cole, 1999). La transformación de N orgánico a su forma mineral se da a través de la amonificación, donde las formas orgánicas nitrogenadas, principalmente macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos y amino-polisacáridos; pasan a través de procesos enzimáticos a sus formas simples (amino ácidos, purinas y amino azúcares), los cuales son degradados por los microbios formando NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Fassbender, 1994; Stevenson y Cole, 1999).

La subsecuente conversión de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a otras formas inorgánicas ocurre a través de la oxidación de este por medio de bacterias nitrificantes (géneros *Nitrosomona* y *Nitrobacter*), las cuales convierten el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, y este último a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Stevenson y Cole, 1999). Una parte de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> también puede ser: absorbido por las plantas; absorbido por minerales arcillosos, o por la materia orgánica; fijado por minerales 2:1 no expandibles; inmovilizado por microorganismos; ó lixiviado a través del suelo; (Fassbender, 1994)

La transformación gradual de la materia orgánica a través de los procesos antagónicos de mineralización e inmovilización en materia orgánica estable genera la relación estequiométrica entre el C y el N o la relación C/N (Stevenson, 1994); la cual puede ser utilizada como un indicador que provee información valiosa sobre la actividad biológica y el equilibrio entre los dos

elementos, lo cual permite establecer el grado de transformación de la materia orgánica (Pansu y Gautheyrou, 2006).

En regiones de clima templado, la relación C/N del suelo se encuentra alrededor de 10 a 12 para suelos superficiales sin cultivo y generalmente disminuye con un incremento en la profundidad. Mientras que en suelos forestales, las relaciones varían alrededor de 20 a 30 o mucho más altas debido a la formación de compuestos orgánicos estructuralmente complejos (Stevenson, 1994). En suelos cultivados, la adición de residuos agrícolas en los campos genera una relación C/N entre 15 y 60 debido a la presencia de componentes lignina-celulosa con un bajo grado de degradación (Pansu y Gautheyrou, 2006). Los factores que pueden estar estrechamente relacionados en la relación C/N incluye la fijación de  $\text{NH}_3$  o amidas por sustancias como ligninas (Stevenson, 1994).

La tasa de mineralización de la materia orgánica del suelo depende, entre otros factores, de la temperatura (cuyo óptimo se encuentra entre 10 y 35°C), de la disponibilidad de oxígeno, y el manejo del suelo y de los cultivos (Robert, 2002). En bosques tropicales, la descomposición de residuos puede durar menos de un año, mientras que en bosques templados el intervalo de mineralización del N es de 1 a 2% por cada uno o dos años (Zech *et al*, 1997).

También la calidad de los residuos orgánicos influye su descomposición. Es decir que la velocidad de la descomposición es dependiente de la estructura química de los componentes originales. Azúcares, almidones y proteínas no permanecen por mucho tiempo en el suelo debido a que son rápidamente consumidos por hongos y bacterias, por lo que el C y la energía que ellos proveen son rápidamente disponibles. Componentes como la celulosa, grasas, ceras y resinas o incluso la lignina, presentan estructuras más complejas y son más difíciles de romper para los microorganismos por lo que su descomposición es lenta (Bot y Benites, 2005).

### **3.4.2 Humificación**

En contraste al proceso de mineralización, en la humificación, las moléculas orgánicas que no pueden ser degradadas en componentes orgánicos simples son transformados, a través de sucesivas etapas en la descomposición, en polímeros condensados llamados *Humus*, los cuales son frecuentemente

descritos como complejas estructuras de naturaleza coloidal de coloración oscura, las cuales, debido a sus interacciones con otros constituyentes del suelo, pueden persistir con pequeñas alteraciones a lo largo de cientos de años (Tipping, 2002; Bot y Benites, 2005; Lavelle y Spain, 2005).

En general, el Humus comprende dos tipos de componentes (Stevenson y Cole, 1999):

- ❖ Sustancias no húmicas: Comprenden una amplia variedad de biopolímeros formados a partir de residuos frescos que incluyen carbohidratos, lípidos, ceras, y proteínas; que presentan propiedades físicas y químicas reconocibles (Zech *et al*, 1997; Stevenson y Cole, 1999). Son fácilmente atacadas por microorganismos y convertidos relativamente rápido en otros componentes, por lo que representan la fuente principal de alimento de muchos organismos en el suelo (Jackson, 1993).
- ❖ Sustancias Húmicas: Consisten de mezclas complejas y heterogéneas de materiales polidispersos formados por reacciones de síntesis químicas y bioquímicas secundarias durante la degradación y transformación de plantas, restos microbianos y organismos pequeños que habitan en el suelo (International Humic Substances Society, 2009).

Químicamente, las sustancias húmicas pueden ser divididas en tres grupos: (1) ácidos húmicos, los cuales son solubles en soluciones alcalinas pero precipitan con soluciones ácidas; (2) ácidos fúlvicos, asociados al material húmico que permanece en soluciones ácidas y son solubles tanto en ácido y/o agua no base; y (3) huminas, que no son extraídas por soluciones básicas ó ácidas (Jackson, 1993).

### **3.5 Composición de las sustancias húmicas**

La composición de los materiales húmicos varía entre fracciones húmicas. En general, las sustancias húmicas están compuestas por aproximadamente 40-60% de C, 30 - 50% de O, 4 - 5% de H, 1- 4% de N, 1 - 2 % de S, y 0 a 0.3% de P. Los ácidos húmicos contienen más C, H, N y S, y menos O que los ácidos fúlvicos, mientras que estudios sobre la composición de huminas muestra que son muy similares a los ácidos húmicos excepto que ellos están fuertemente enlazados a metales y arcillas, lo cual forma compuestos insolubles (Gaffney *et al*, 1996).

La distribución de grupos funcionales, principalmente de aquellos que presentan en su estructura oxígeno, como los  $-\text{COOH}$  y grupos  $-\text{OH}$  ácidos ( $-\text{OH}$  fenólicos),  $-\text{OH}$  alcohólicos y  $-\text{C}=\text{O}$  de quinonas, definen las características químicas de las sustancias húmicas como son: la polaridad, la solubilidad y la reactividad. Propiedades como la acidez están estrechamente relacionadas a estos grupos; principalmente por grupos  $-\text{COOH}$  y grupos  $-\text{OH}$  fenólicos (Stevenson, 1994). La acidez total en ácidos fúlvicos (640-1420 cmol/Kg) es mucho mayor que la presente en ácidos húmicos (560-890 cmol/kg). Esta diferencia puede ser atribuida principalmente a que los ácidos fúlvicos son grupos mucho más alifáticos ricos en ácidos carboxílicos, fenoles y grupos quetónicos; mientras que los ácidos húmicos son principalmente aromáticos (Fassbender, 1994; Stevenson y Cole, 1999). Las huminas son similares a los ácidos húmicos, aunque son ligeramente menos aromáticas y contienen un alto contenido de polisacáridos (Sparks, 2003).

También, la capacidad de interactuar con minerales u otras sustancias, principalmente por la asociación a superficies minerales formando complejos órgano-minerales, permite que las sustancias húmicas formen estructuras estables lo que las hace resistentes al ataque de los microbios, permitiendo que persistan por cientos o miles de años, especialmente en suelos con baja actividad biológica (Zech *et al*, 1997).

El color es una de las características principales que distinguen a las sustancias húmicas. Se cree que el color negro de las sustancias húmicas está influenciado por ciertas partes de la estructura, principalmente quinonas y quetonas, que funcionan como grupos cromofóricos, los cuales absorben la luz (Stevenson, 1994). Esta coloración, que va de amarillo claro a amarillo marrón (ácidos fúlvicos) y de café oscuro a negro (ácidos húmicos y huminas), refleja al mismo tiempo el grado de descomposición de la materia orgánica, donde a medida que aumenta el color oscuro se hace más intenso. Asimismo, el color oscuro de las sustancias húmicas absorbe el calor del sol e incrementa la temperatura del suelo, lo que estimula el crecimiento de las plantas y la actividad microbiana así también, a través de la interacción de las sustancias húmicas se favorece la formación y estabilidad de los agregados, e incrementa la capacidad de intercambio catiónico (Silva, 1995).

Los diferentes materiales húmicos, presentan un amplio rango de tamaño y pesos moleculares. Los ácidos fúlvicos un peso molecular que varia en un rango de 0.5 a 50 kDa., mientras que los ácidos húmicos, el peso molecular promedio es entre 3 a 1000 kDa. (Gaffney *et al*, 1996; Sparks, 2003). Se ha observado que el contenido de grupos -COOH en sustancias húmicas esta inversamente relacionado al peso molecular, lo que coincide con la cantidad de -COOH en ácidos fúlvicos (Stevenson, 1994).

Propiedades	Ácidos fúlvicos	Ácidos húmicos	Huminas
Color	Amarillo a pardo	Pardo a negro	Negro
Peso molecular	Bajo	Medio	Alto
% de Carbono	40-50	55-60	>55
% de Nitrógeno	<4	3-4	>4
% de Oxígeno	44-48	33-36	32-34
Acidez total	10-14	6-10	5-6
Grupos funcionales:			
Grupos carboxílicos (COOH)	8-9	2-5	3-4
Grupos metoxílicos (OCH <sub>3</sub> )	<0.5	<0.5	<0.5
Grupos alcohólicos (OH)	3-6	<1-4	--
Grupos fenólicos (OH)	3-6	2-6	2
Grupos carbonil (C=O)	1-3	1-5	5-6

Tabla 1. Propiedades químicas de las sustancias húmicas.

### 3.6 Extracción de las Sustancias Húmicas

Numerosos estudios han intentado descifrar la conformación química de las sustancias húmicas (Heyman *et al*, 2005); sin embargo, la variación entre características como el tamaño, composición química, y estructura, de acuerdo al origen y año del material original, hacen que el estudio de su función sea complicado (Chen *et al*, 2002). La aplicación de técnicas de extracción han sido empleadas para el estudio a detalle de la estructura y propiedades física y químicas de los componentes húmicos, reduciendo su heterogeneidad y permitiendo obtener fracciones separadas y libres de materiales que dificulten su caracterización (Stevenson, 1994; Tan, 2003; Rosa, *et al* 2005).

A lo largo de los años, han sido evaluados diferentes solventes orgánicos e inorgánicos, agentes complejantes con base a su efectividad de extraer los componentes húmicos, por lo que diferentes criterios han sido utilizados para

la selección del extractante (Tan, 2003; Tan, 2011). Al respecto, Tan (2003), considera que la selección del método de extracción depende de la naturaleza del material a examinar y del uso del reactivo de extracción; mientras que Stevenson (1994) y Almendros y Hernández (2009), refieren creen que un procedimiento de extracción ideal debe cumplir los siguientes criterios:

1. El método debe llevar a la separación de material sin alterar.
2. El material húmico extraído debe estar libre de compuestos inorgánicos, como arcillas y cationes polivalentes.
3. La extracción debe ser completa, o cercanamente a eso, asegurando la representación de las fracciones del rango de peso molecular entero.
4. El método es universalmente aplicable a todos los tipos de suelo.

Algunos de los extractantes más utilizados para la separación de componentes húmicos incluyen soluciones alcalinas, en especial el NaOH. Esta solución alcalina permite, desde el punto de vista de los rendimientos, remover cerca del 80% de la materia orgánica de algunos suelos, lo cual resulta de gran relevancia no solo en estudios donde se determina la cantidad de sustancias húmicas extraídas sino también el contenido de carbono (Vaughan y Malcolm, 1985; Tan, 2011), por lo que es considerado como uno de los extractantes más eficientes y utilizados en estudios húmicos (Vaughan y Malcolm, 1985; Rosa *et al*, 2005).

Las extracciones alcalinas son usualmente precedidas por un tratamiento del suelo con un ácido mineral (descalcificación) para mejorar el subsecuente rendimiento de material soluble en la solución alcalina. La mayoría de los estudios concuerdan que la concentración óptima de esta solución es 0.1 M de NaOH (Vaughan y Malcolm, 1985). Después de la extracción con la solución alcalina, el resultado es un sobrenadante oscuro que es acidificado a pH 1 para separar el aún permanente ácido fúlvico soluble del insoluble ácido húmico. La relación de ácido húmico y fúlvico extraído varía con el tipo de suelo y con la profundidad de éste (Vaughan y Malcolm, 1985).

Sin embargo, con el avance en la química húmica en el siglo XX, el uso de estos extractantes ha sido cuestionado por algunos científicos (Tan, 2011). Algunos creen que este tipo de extracción disuelven parcialmente a las ligninas y a

ciertos carbohidratos, rompiendo los enlaces más lábiles, produciendo neoformaciones que determinan la liberación de oligómeros (sustancias provenientes de la degradación química de constituyentes vegetales macromoleculares: ligninas, taninos condensados, hemicelulosas) y que pueden presentar las mismas propiedades de solubilidad que los Ah y Af pero que no son sustancias húmicas (Almendros y Hernández, 2009).

La preocupación por este factor de error en la extracción con NaOH y en orden de evitar los efectos del uso de las fuertes extracciones alcalinas de la materia orgánica del suelo, algunos trabajos han evaluado otros agentes más suaves para la extracción de sustancias húmicas. (Tan, 2003; Tan, 2011).

Algunos de ellos incluyen fluoruro de sodio, oxalato pirofosfato de sodio y el sodio-EDTA así como solventes orgánicos como el ácido fórmico, la mezcla de ácido fórmico y bromuro de litio, acetil cetona, piridina y dimetil formamida, también el uso de resinas queladas, dispersión ultrasónica, y extracción secuencial con diferentes agentes también han sido adicionadas (Vaughan y Malcolm, 1985). Sin embargo, se cree que cualquiera de ellos no está exento de influir o modificar en alguna medida las propiedades físicas y/o químicas de las sustancias extraídas (Tan, 2011).

No obstante, frente a la incertidumbre de algunos investigadores, el uso de NaOH como extractante de componentes húmicos se mantiene aún vigente, dado que éste produce resultados reproducibles cuantitativa y cualitativamente (Tan, 2003).

### **3.7 Caracterización de las Sustancias Húmicas**

Durante varios años, los científicos han buscado la estructura química que permita reflejar la reactividad y propiedades físicas y químicas de las sustancias húmicas. Esto ha llevado al desarrollo de instrumentos analíticos que permitan conocer la composición de estas sustancias (Saiz-Jiménez, 1996). Algunas metodologías consisten en la degradación química o térmica, donde en base a reacciones de oxidación, reducción, pirolisis, y en ocasiones a reactivos específicos, se rompen determinados tipos de enlaces en fragmentos las unidades que suelen identificarse e interpretarse por otros métodos (Almendros y Hernández, 2009). Sin embargo, los resultados no están exentos de alteraciones moleculares que pueden producirse



durante la degradación y por lo cual se debe ser cauteloso en su interpretación (Labrador, 2002; Almendros y Hernández, 2009; Tan, 2011).

En la búsqueda de métodos capaces de caracterizar la composición y función de los compuestos húmicos, se ha dado especial atención al uso de técnicas no degradativas, las cuales incluyen el uso de técnicas que incluyen la detección espectro-fotométrica, rayos X y microscopia electrónica; así como el análisis de viscosidad, tensión superficial y determinación de pesos moleculares (Schnitzer y Khan, 1978). Entre estas, las técnicas espectroscópicas han sido consideradas como alternativas que mejoran los métodos de laboratorio convencional en el estudio de los suelos, al facilitar la determinación de la estructura molecular, la interpretación y la correlación de los datos espectrales con datos quimiométricos, también por que ofrecen análisis más rápidos, menos costosos, no destructivos, directos y algunas veces más exactos que otros métodos (Saiz-Jiménez, 1996; Pasto y Johnson, 2003; Viscarra *et al*, 2006).

La espectroscopia infrarroja ha tenido una importancia relevante en el estudio de las sustancias húmicas, al facilitar el análisis de sus estructuras (Pasto y Johnson, 2003). Un solo espectro permite la caracterización simultánea de varios constituyentes de los compuestos orgánicos del suelo proporcionando información útil sobre la naturaleza, arreglo y proporción de los principales grupos funcionales (Stevenson, 1994; Almendros y Hernández, 2009). El espectrograma del infrarrojo también hace posible detectar cambios en la estructura de los materiales húmicos, al identificar cambios asociados por oxidación, pirolisis u otros tratamientos. Además, es altamente sensible a fases orgánicas e inorgánicas del suelo, lo que permite detectar la formación de complejos húmico-metálicos y húmico-arcillosos o interacciones entre materiales húmicos y otras moléculas orgánicas como en el caso de los pesticidas; por lo que su uso en las ciencias agrícolas y ambientales es particularmente relevante (Viscarra *et al*, 2006; Pansu y Gautheyrou, 2006.).

### **3.7.1. Interpretación de espectros.**

#### **Espectroscopia infrarroja**

La región más interesante de los espectros de infrarrojos de las moléculas orgánicas es la comprendida entre 4000 y 400  $\text{cm}^{-1}$ . En esta región se encuentran

las principales bandas de vibración de los diferentes grupos que forman las moléculas de las sustancias húmicas (Niemeyer *et al.*, 1992).

De modo general, la espectroscopia infrarroja se basa en la excitación vibracional de los átomos al interactuar con un haz de luz infrarroja. Los tipos de movimientos que experimentan estos átomos son conocidos como de *tensión y flexión*, estos movimientos son detectados por un equipo de espectro Infrarrojo, el cual permite reconocer la presencia de los grupos funcionales (O–H, C–C, C=C, C=O, C–H, N–H) de las moléculas dando lugar a un perfil constituido por bandas que varían en longitud y frecuencia (figura 1) (Almendros y Hernández, 2009).

De todas las bandas que se observan en los espectros de infrarrojos de las sustancias húmicas, se suelen escoger las atribuidas a los grupos funcionales más significativos para analizar relaciones entre intensidades y buscar diferencias en composición y reactividad química. Dichas bandas son las que aparecen a 1720 cm<sup>-1</sup>, 1620 cm<sup>-1</sup>, 1380 cm<sup>-1</sup> y 1220 cm<sup>-1</sup> (Niemeyer *et al.*, 1992).

La complejidad en muestras de suelo suele ser un obstáculo para una correcta interpretación, por lo que de acuerdo a Almendros y Hernández (2009), hay que tener en cuenta que:

1. Un mismo constituyente estructural puede tener varios modos de vibración y por lo tanto producir varias bandas en distintas regiones del espectro.
2. Grupos funcionales muy diferentes pueden producir picos de absorción en regiones similares del espectro.
3. Los espectros infrarrojos son muy sensibles a impurezas minerales, produciendo bandas intensas (1030 cm<sup>-1</sup>) con cantidades de arcillas bajas (4-5%).

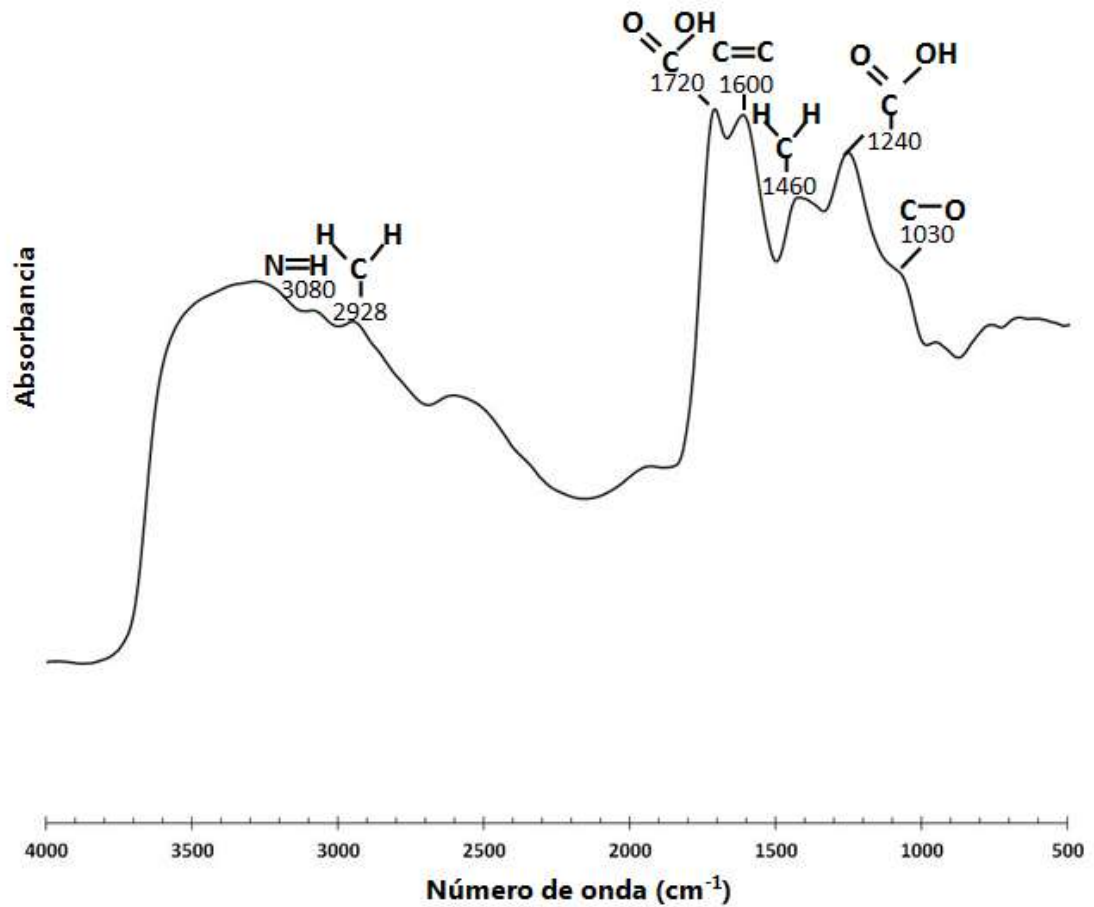


Figura 1. Principales bandas de un espectro infrarrojo de suelo.

A pesar de sus limitaciones, una manera de facilitar el reconocimiento de patrones es a partir del aumento de la resolución mediante un algoritmo basado en la sustracción del espectro original de un múltiplo positivo de de la 2ª derivada, seguido por un suavizado (smoothing) (Almendros y Hernández, 2009.). Esto permite identificar las bandas que posiblemente hallan sido solapadas por otras de mayor intensidad, así como definir bien su posición (figura 2).

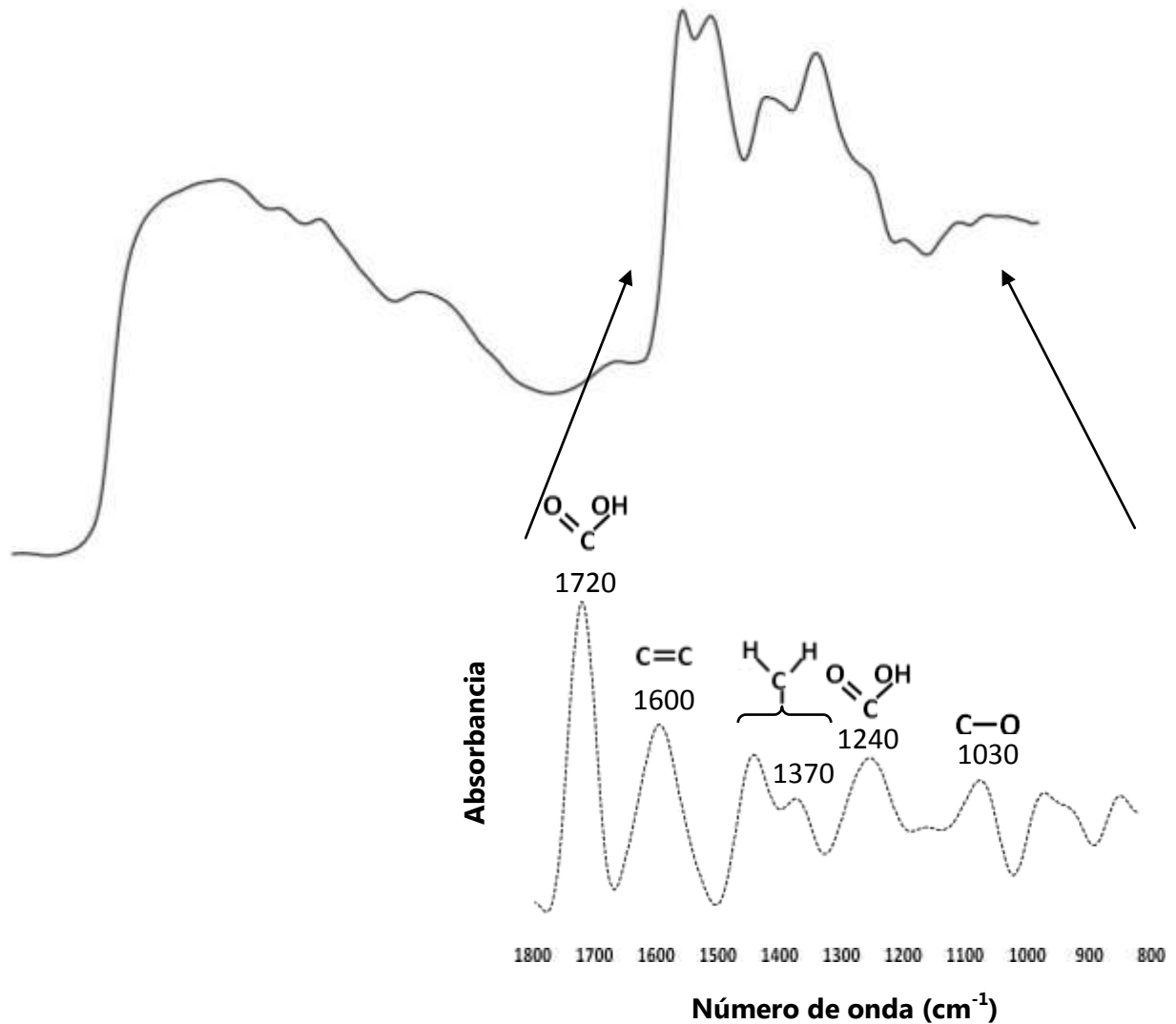


Figura 2. Espectro infrarrojo y segunda derivada de un ácido húmico.

### Espectroscopia visible E4/E6

Por otro lado, la relación de las absorbancias a 465 y 665 nm, referida como relación E4/E6, es otro parámetro que ha sido ampliamente empleado para propósitos de caracterización de la materia orgánica (Stevenson, 1994). Éste cociente presenta una relación inversa con el peso y condensación molecular, por lo que sirve como un índice de humificación, de manera que cuando la relación decrece se incrementa el tamaño molecular, el grado de condensación y la aromaticidad de las sustancias húmicas; mientras que una relación alta indica la presencia de estructuras más alifáticas y de material más joven (Kononova, 1982).

## 4

### **Objetivos**

#### **Objetivo General**

Caracterizar la fracción de ácidos húmicos (Ah) de suelos regados durante diferente periodo de tiempo con agua residual del Valle del Mezquital.

#### **Objetivos Particulares:**

- ❖ Caracterizar los rasgos químicos y estructurales de la fracción de ácidos húmicos y algunas propiedades edáficas en dos suelos distintos (Vertisol y Leptosol).
- ❖ Evaluar el efecto del tiempo de riego con aguas residuales sobre la composición química de los ácidos húmicos.
- ❖ Evaluar la influencia de las propiedades edáficas de dos suelos distintos sobre la modificación química y estructural de los ácidos húmicos.

## 5

### **Hipótesis**

- La adición de residuos orgánicos provenientes de las aguas residuales afectará la composición química y estructural de los ácidos húmicos del suelo en función al tiempo de riego.
- Los cambios en la composición química de los Ah serán diferentes en el Vertisol y el Leptosol.

## Metodología

### 6.1.- Zona de estudio

El Valle del Mezquital, es considerado como la zona con mayor área agrícola que utiliza aguas residuales a nivel mundial, se encuentra situado en la parte suroeste del Estado de Hidalgo a 60 km de la Ciudad de México (latitud norte  $20^{\circ} 02'$  y longitud oeste  $99^{\circ} 15'$ ), y a una altitud entre los 1640 y 2400 msnm. Esta delimitado al norte por el Valle de Ixmiquilpan, al este por el Valle y la sierra de Actopan, al oeste por la sierra de Ximthe y al sur por el Estado de México.

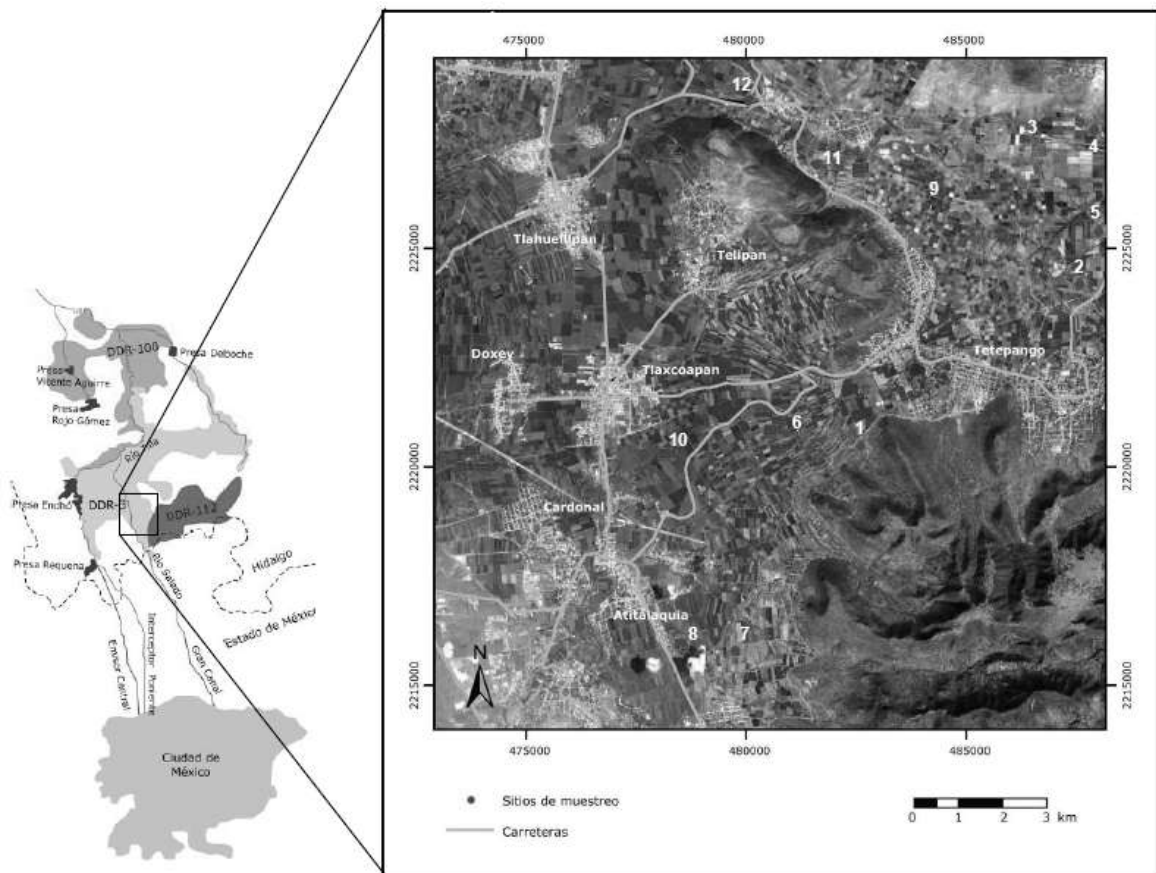


Figura 3. Localización del área de estudio (Tomado de Chapela, 2011)

El clima es semi-árido a templado con lluvias en los meses de junio a septiembre, una temperatura media anual entre los 16 y 18 °C, y con lluvia media anual de 400 mm en la parte norte y 700 mm en la parte sur del Valle (Siebe, 1994). La

vegetación está formada principalmente por plantas de clima seco (huizaches, pirules, ahuehuetes, nogales, biznagas, nopales, cardones, garambullos), aunque se puede encontrar vegetación de bosque en las zonas de mayor elevación (González, 1967).

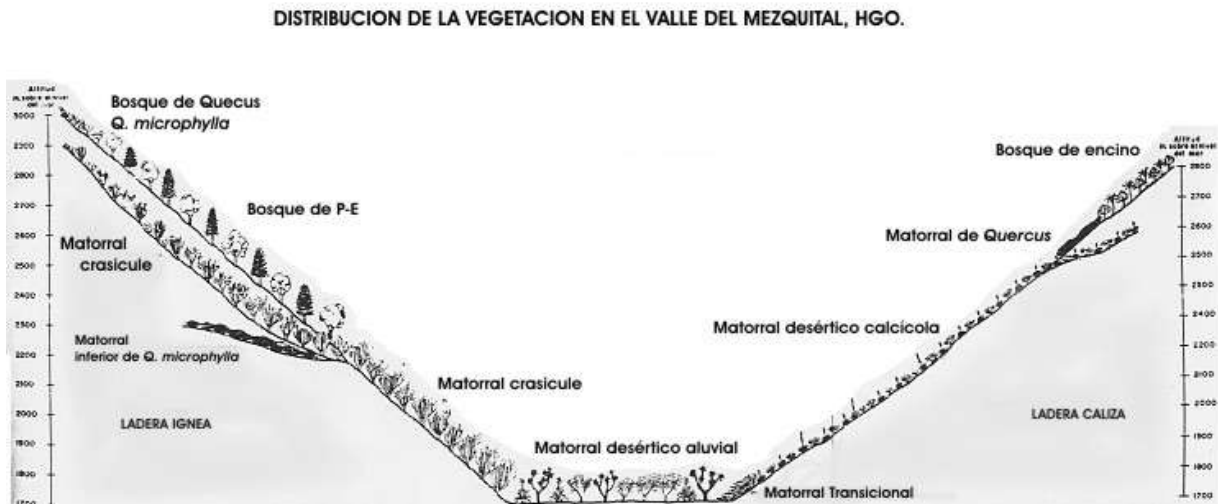


Figura 4. Distribución de la vegetación en el Valle del Mezquital en relación a la altitud (Tomado de González, 1968).

Fisiográficamente, el Valle del Mezquital comprende una antigua cuenca lacustre limitada por la subprovincia de Llanuras y Sierras de Querétaro e Hidalgo pertenecientes a la llamada Mesa Neovolcánica. Parte de la geología más antigua de estas elevaciones comprende materiales derivados de rocas sedimentarias de origen marino como calizas y calizas dolomíticas originadas en el Cretácico inferior y superior (CNA, 1998).

Sobre ellas se constituyen rocas clásticas y volcánicas de riolitas y basaltos derivadas del Terciario que contienen intercaladas arcilla, limo y caliza lacustre. Mientras que el material más joven comprende depósitos de aluviones de origen fluvial y materiales clásticos de ceniza y caliza lacustre derivados del periodo de vulcanismo del Cuaternario, los cuales afloran a lo largo del río Actopan y en ciertos tramos del cauce del río Tula, elevando la permeabilidad de los suelos (Del Arenal, 1978).

Depósitos de origen coluvial y aluvial transportados de las cimas montañosas forman el relleno del valle, sustentando un mosaico edáfico más o menos homogéneo donde suelos de tipo Leptosol dominan en las sierras; mientras que en

las llanuras se forman suelos generalmente profundos como Vertisoles eútricos y Feozems haplicos y cálcicos (Pérez *et al*, 2002; Chapela, 2011).

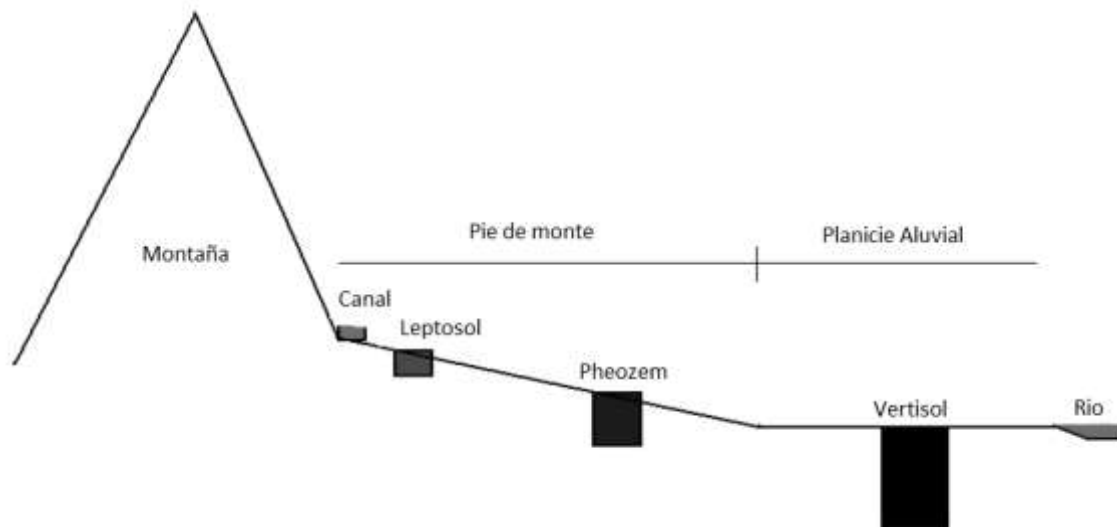


Figura 5. Esquema que muestra la distribución de los tipos de suelo dominantes en la zona de estudio (Tomado de Cayetano, 2012).

Los Vertisoles son suelos pesados que tienen como principal característica la presencia de un horizonte vértico, horizonte diagnóstico que lo distingue de otros suelos. Este horizonte contiene una gran cantidad de arcillas, alrededor de un 30% o hasta un 90%, lo que les permite expandirse y contraerse, resultando en la formación de grietas muy profundas durante la sequía y en la formación de facetas de presión en los horizontes subsuperficiales. Dentro del perfil se puede encontrar además un horizonte cálcico de materiales muy finos dentro o debajo del horizonte vértico así como yeso en cristales distribuidos uniformemente en la matriz del horizonte vértico.

Los Leptosoles por otro lado, son suelos muy someros que están limitados en profundidad por roca dura continua dentro de los 25 cm desde la superficie del suelo, o suprayacen a un material con más del 40% de carbonato de calcio equivalente, dentro de los primeros 25 cm desde la superficie del suelo, lo que les confiere abundantes contenidos de materia orgánica y saturación de bases de alrededor del 100%.

El uso del suelo lo comprende la agricultura y la ganadería, de las cuales la primera es la de mayor importancia en la región. La agricultura puede ser de riego



(producción extensiva principalmente), o de temporal (de granos básicos para autoconsumo principalmente) (CNA, 1998).

La irrigación de agua residual se realiza a través de surcos, y su tasa de aplicación varía entre 1500 y 2200 mm, lo que depende del cultivo y el tipo de suelo. La mayoría de cultivos son de alfalfa y maíz (60-80%), frijoles, avena, cebada, diversas hortalizas jitomate rojo, frutales (CNA, 1968).

## 6.2.-Diseño experimental

Se tomaron muestras archivadas pertenecientes a los trabajos de Siebe (1994), y Chapela (2011), colectadas en los años de 1990 y 2009, respectivamente. La selección de muestras en ambos trabajos correspondió a parcelas agrícolas de suelos Vertisol y Leptosol que fueron regadas durante distintos periodos de riego. Cada parcela seleccionada fue dividida en cuadrantes, dentro de cada uno se tomaron entre 12 y 16 núcleos dependiendo del tamaño de la parcela, con una barrena de 4 cm de diámetro y 30 cm de profundidad. Estos núcleos se mezclaron y homogeneizaron para formar una muestra compuesta.

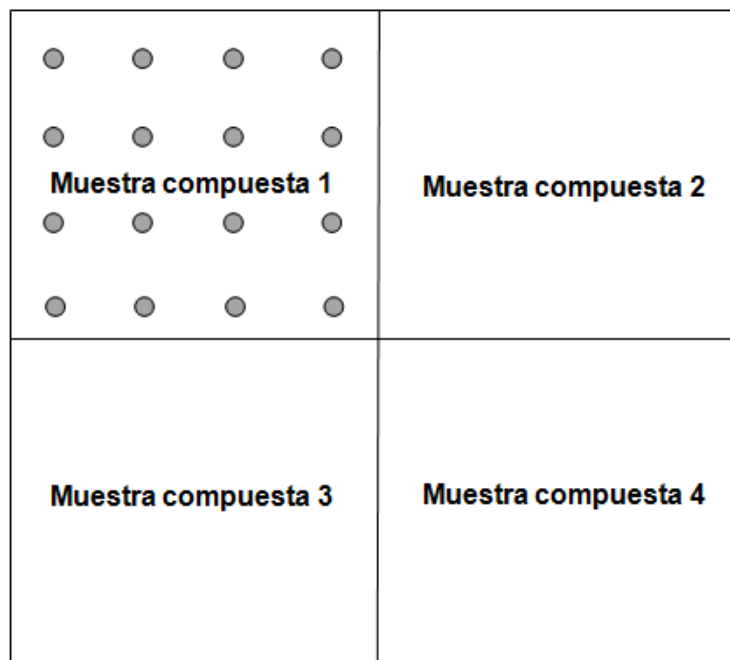


Figura 6. Croquis del prototipo de las parcelas muestreadas por Siebe (1990) y Chapela (2011). Los círculos grises representan los núcleos individuales usados para formar la muestra compuesta.

Suelo	Localidad	Tiempo bajo riego (Años)
Lp	Tetepango	0
Vr	El Tigre	0
Vr, Lp	La licuadora	4
Vr, Lp	Bojayito Chico	84

Tabla 2. Localidades, tipo de suelo y años bajo riego de los sitios de muestreo.

En este estudio, el criterio de selección de muestras fue el tiempo de exposición con agua residual (0, 4 y 84 años), y el tipo de suelo (Vertisol y Leptosol). Se eligieron también dos parcelas como control que se encuentran bajo cultivo de temporal y nunca han sido regadas con agua residual.

## 6.3 Métodos analíticos

### 6.3.1 Análisis de suelos

Antes del análisis y tratamiento de los suelos, las muestras se pasaron a través de un tamiz de malla de 2 mm de diámetro. Se determinaron por duplicado el pH, la conductividad eléctrica, y el C orgánico. Los datos reportados se presentan como el promedio aritmético de ambas réplicas.

#### 6.3.1.1 pH

Tras agitar durante 18 hrs, se midió en una suspensión 1:2.5 de suelo en cloruro de calcio 0.01M (Schliting *et al*, 1995) con un pH metro marca Beckman.

#### 6.3.1.2 Conductividad eléctrica

Tras agitar durante 18 hrs, se midió a temperatura ambiente por duplicado en una suspensión 1:2.5 suelo/agua desionizada, con un conductímetro marca Aqualytic CD 19.

#### 6.3.3 Carbono orgánico

Se determinó por medio del método de oxidación por dicromato de potasio modificado por Lichterfelder (Schlichting *et al*, 1995), el resultado se comparó contra una curva de calibración a partir de una solución de glucosa 1:10 (glucosa: agua desionizada), y se midió la concentración final de C por medio de un

espectrofotómetro. Los valores de C orgánico se presentan como porcentaje con base en peso seco.

### **6.3.2 Extracción de ácidos húmicos**

La extracción y análisis de los AH se llevó a cabo mediante la metodología señalada por Almendros y Hernández (2009), la cual puede resumirse en tres fases:

#### **PRIMERA FASE:**

Consistió en la separación de la Materia Orgánica Libre (MOL) y la eliminación de carbonatos mediante la adición de 165 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  2M por cada 50 g de muestra de suelo seco al aire, lo cual se agitó durante 10 min y centrifugó a 2500 rpm x 15 min, del cual se desechó el sobrenadante y se recuperó el precipitado (Residuo) Figura 1.

#### **SEGUNDA FASE:**

Se utilizó pirofosfato sódico ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) 0.1M como primera solución extractante, para lo cual se añadieron 375 mL del mismo y se dejó agitar durante 6 hr. Posteriormente, se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante con el extracto húmico total (EHT) y se transfirió a una probeta graduada de 1L. La operación se repitió 3 veces sobre la misma muestra.

A continuación, se adicionaron 375 mL de NaOH 0.1 M al precipitado de las extracciones previas con  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , y se agitó durante 4 hr para posteriormente centrifugar a 3000 rpm durante 15 min. Al final, el sobrenadante se adicionó al EHT y se reservó para la purificación de Ah.

#### **TERCERA FASE:**

Se llevó a cabo la purificación de Ah, para lo cual se dejaron decantar las arcillas del EHT y se sifonó el sobrenadante (sustancias húmicas) al cual se le añadió HCl 6M hasta observar la coagulación de Ah (pH=2). Se sifonó nuevamente y se recuperó el precipitado, el cual contenía a los AH. Éste se redisolvió con NaOH 0.5 M hasta llegar a pH 9 y centrifugó a 12,000 rpm durante 5 min, con lo cual se obtuvieron los Ah como precipitado sin arcillas. A éste se le añadió nuevamente HCl 6M hasta pH 2 y centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se colocó en bolsas de diálisis para la eliminación de sales y se sumergieron en agua destilada durante 5 días durante los cuales se cambió el agua cada día. Una vez terminada la diálisis

(reacción negativa con  $\text{AgNO}_3$ ), se vertió el contenido en frascos de vidrio y se colocaron en la liofilizadora, donde las muestras se secaron y se guardaron para la posterior caracterización de su estructura y composición macromolecular de los Ah.

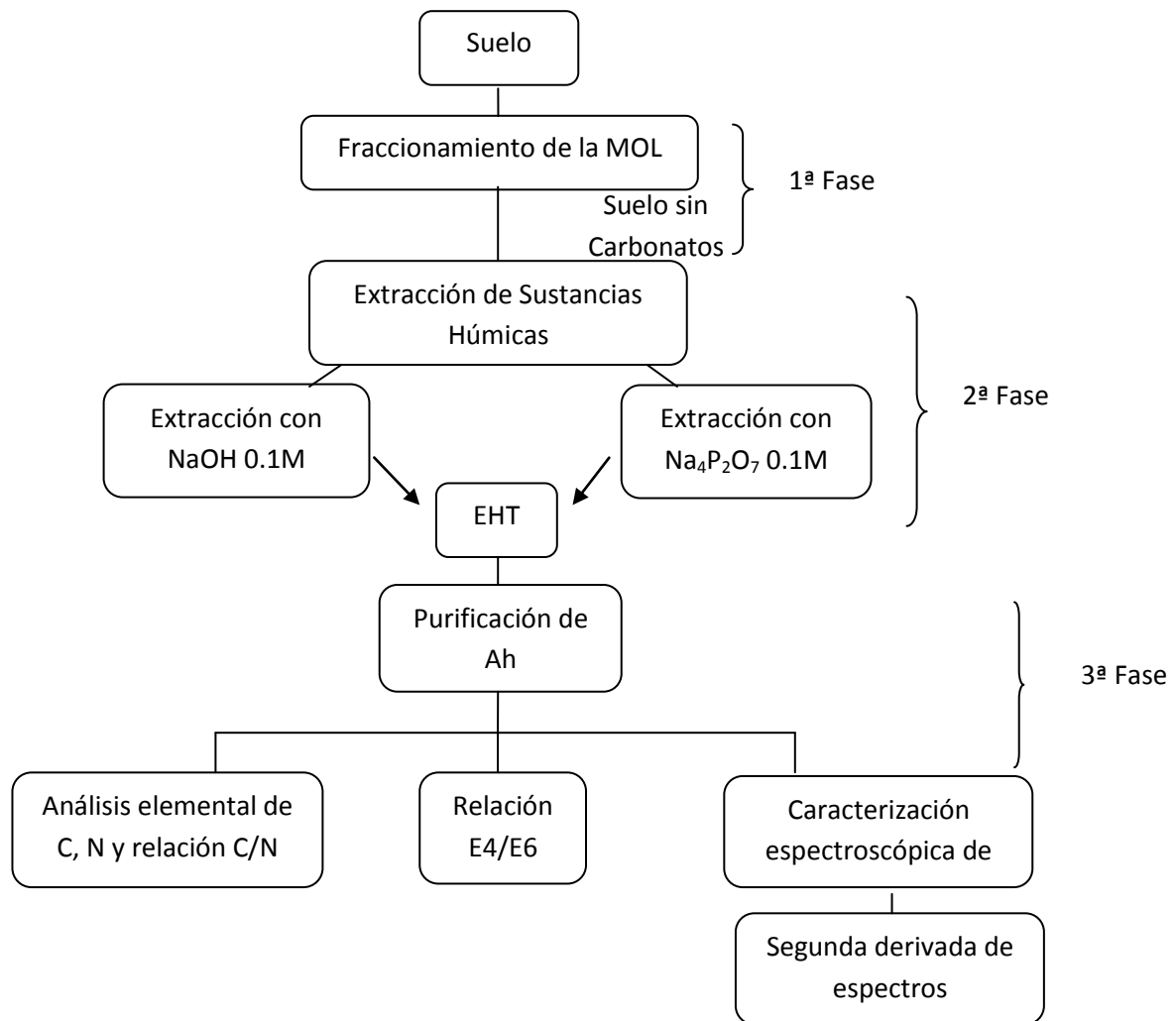


Figura 7. Diagrama de Extracción y análisis de laboratorio realizados.

### 6.3.3 Análisis de Ácidos húmicos

#### Relación $E_4/E_6$

El método para determinar esta relación se basó en el trabajo propuesto por Chen y colaboradores (1977); para lo cual las muestras de Ah liofilizadas se diluyeron con  $\text{NaHCO}_3$  2N hasta llegar a pH 8 (3ml de muestra: 4ml de  $\text{NaHCO}_3$ ), y se midieron a una longitud de onda de 465 y 665 nm en un Espectrofotómetro UV marca Thermo Spectronic Genesis 10VIS.

### **6.3.3.2 Composición elemental y relaciones C/N, C/H y C/O**

La proporción de C y N en las muestras de Ah liofilizados fueron determinadas directamente usando un analizador elemental marca Perkin Elmer CHN 2400 II. Los resultados son expresados como porcentaje de peso atómico.

### **6.3.3.3 Caracterización de espectros infrarrojos de los Ah**

El análisis de las muestras de Ah se realizó en el Espectrofotómetro Infrarrojo marca Varian Excalibur serie 3100 equipado con EasiDiff TM (PIKE Technologies) para la medición en Espectroscopia de Reflectancia Difusa con Transformada de Fourier (DRIFT) en Infrarrojo medio ( $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ), a una resolución de  $4\text{cm}^{-1}$  y para reducir el ruido se realizaron 64 barridos en cada muestra.

La muestra se preparó colocando  $0.194\text{g}$  de KBr previamente seco en la estufa a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  y pulverizado por cada  $0.006\text{g}$  de muestra de Ah liofilizados. Los espectros fueron analizados en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ , abscisas) por % de Absorbancia (ordenada). Asimismo, para facilitar el reconocimiento de patrones a partir de los espectros, se procedió a aumentar la resolución mediante un algoritmo basado en la sustracción del espectro original de un múltiplo positivo de la 2ª derivada, (Rosenfeld y Kak, 1982).

## **6.4 Análisis de Resultados**

Las asignaciones de las diferentes bandas observadas en los espectros IR en ambos suelos se compararon con respecto a cartas de correlación de grupos funcionales, así como interpretaciones sugeridas por trabajos relacionados al estudio de Ah, principalmente aquellos relacionados al uso de enmiendas orgánicas (revisar Anexo).

Asimismo, los espectros obtenidos fueron comparados con los resultados obtenidos en el análisis elemental, relaciones atómicas, y relación E4/E6 de cada muestra.

## Resultados

### 7.1. pH y conductividad eléctrica

Las muestras de suelo sin riego presentaron los valores más altos con un pH de 7.0 para el Leptosol y 6.9 para el Vertisol. Mientras que los valores más bajos correspondieron a los suelos con 84 años de riego siendo de 6.4 para el Leptosol y 6.1 para el Vertisol.

La Conductividad eléctrica mostró valores que van de 0.45 a 1.13 (mS/cm). Con respecto a la muestra de suelo sin riego, en el Vertisol aumento a los 4 años de riego a 0.5 mS/cm, y disminuyó a los 84 años con un valor de 0.48 mS/cm. Por otra parte, el Leptosol mostró un mayor con el tiempo de exposición de riego pasando de 0.45 mS/cm a los 4 años, a 1.13 mS/cm a 84 años de riego.

Tabla 2. Valores promedios de pH y Conductividad eléctrica

Años bajo riego	Localidad	pH (1:2.5)	CE (mS/cm)
Vertisol			
0	El Tigre	6.9	0.45
4	La licuadora	6.8	0.5
84	Bojayito Chico	6.1	0.48
Leptosol			
0	Tetepango	7	0.5
4	La licuadora	6.8	0.45
84	Bojayito Chico	6.4	1.13

### 7.2. Carbono orgánico total

El análisis de Carbono orgánico (Corg) mostró un porcentaje que va de 1.24 a 2.47 %. En ambas unidades, se observó que a medida que avanzó el riego con aguas residuales, incrementó el contenido de Corg. En ambos suelos, los porcentajes más bajos correspondieron al suelo sin riego (0 años) con 1.53% para el Vertisol y 1.24% para el Leptosol. Mientras que los porcentajes más altos se presentaron a los 84 años de riego con valores de 2.40% y 2.47 % para el Vertisol y Leptosol.

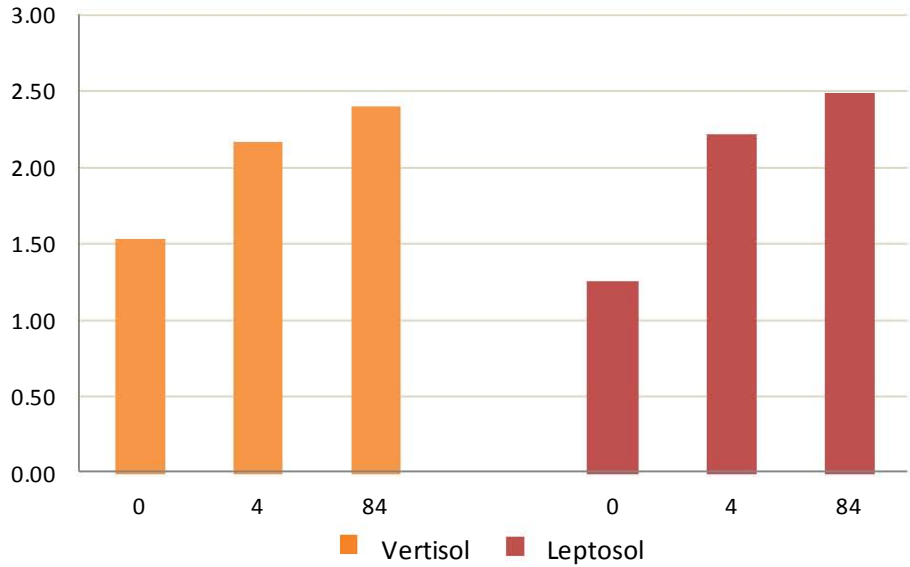


Figura 8. Porcentaje de Carbono orgánico en Ah de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.

### 7.3. Relación (E4/E6)

Las densidades ópticas (E4/E6) obtenidas en éste estudio muestran en ambos suelos un aumento respecto al suelo sin riego (Fig. 9). En el caso del Vertisol, el suelo sin riego (0 años) presentó un valor de 4.43, el cual aumento a los pocos años a 4.44 (84 años) hasta llegar a 4.47 a los 84 años. Mientras que en el Leptosol se observó un mayor incremento pasando de una valor de 4.22 a los 0 años de riego hasta 4.74 al final del periodo de riego.

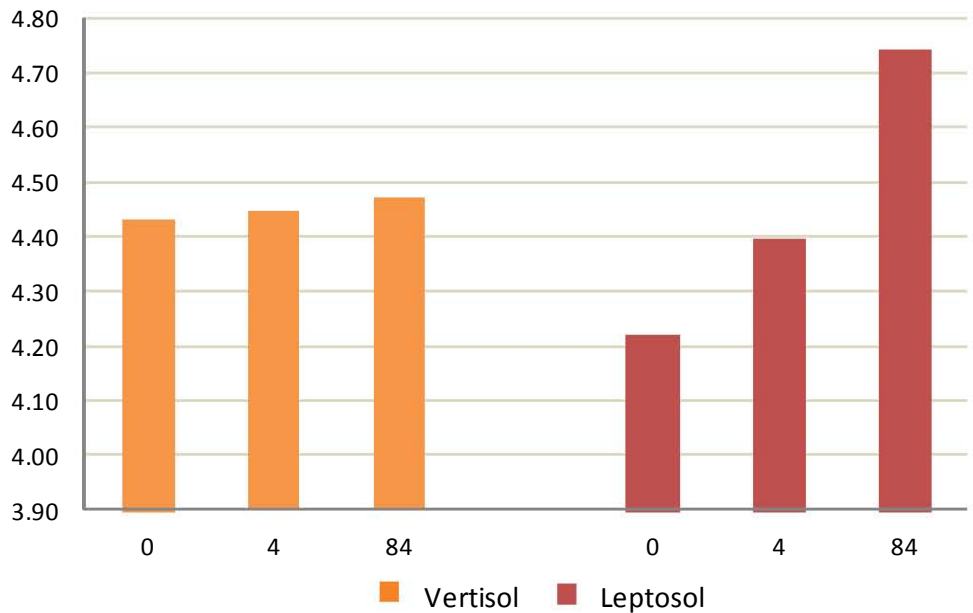


Figura 9. Densidades ópticas (E4/E6) de Ah de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.

## 7.4. Composición elemental

La Tabla 3 muestra los promedios del % de C y N elemental y la relación C/N de la fracción de Ah. De las muestras de suelo sin riego, el Vertisol mostró un mayor contenido de C elemental alcanzando un valor de 52.1 % con respecto al 49 % del Leptosol. Con la adición de aguas residuales, ambas unidades mostraron un incremento del % de C elemental, presentando el mayor % de C a los 4 años de riego, siendo de 54.8 para el Vertisol y 52.5 para el Leptosol; el cual disminuyó con el tiempo de riego a valores de 52.8 y 49.4 respectivamente (Figura 10).

El contenido N disminuyó en el caso del Vertisol mostrando un rango de 3.3% en la muestra sin riego, a 2.7% en el suelo con 84 años de riego (Figura 11). Esto provocó que relación C/N en este suelo aumentara en una proporción de 15.9 en suelo sin riego hasta 19.3 con 84 años de riego. Mientras que en el Leptosol el contenido de N aumentó, presentando en el suelo sin riego un porcentaje de 3.4% hasta llegar a los 84 años de riego con % de 3.9, lo que se reflejó en un decremento de la relación C/N.

<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de C y N elemental y relación C/N.				
<b>Años bajo riego</b>	<b>%C</b>	<b>%N</b>	<b>C/N</b>	
<b>Vertisol</b>				
0	52.1	3.3	15.9	
4	54.8	3.1	17.7	
84	52.8	2.7	19.3	
<b>Leptosol</b>				
0	49	3.4	14.4	
4	52.5	3.6	14.7	
84	49.4	3.9	12.8	



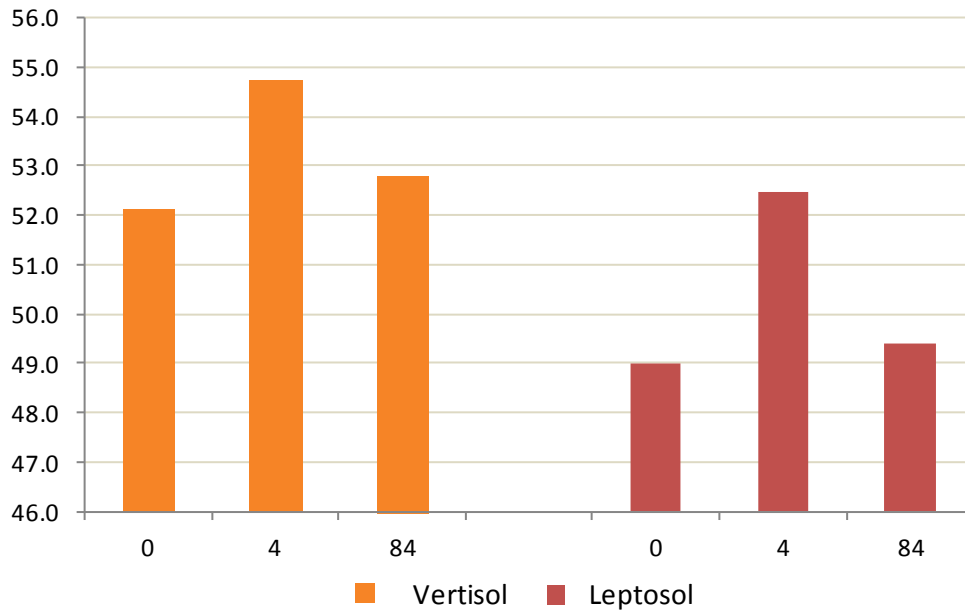


Figura 10. Porcentaje de C en Ah purificados de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.

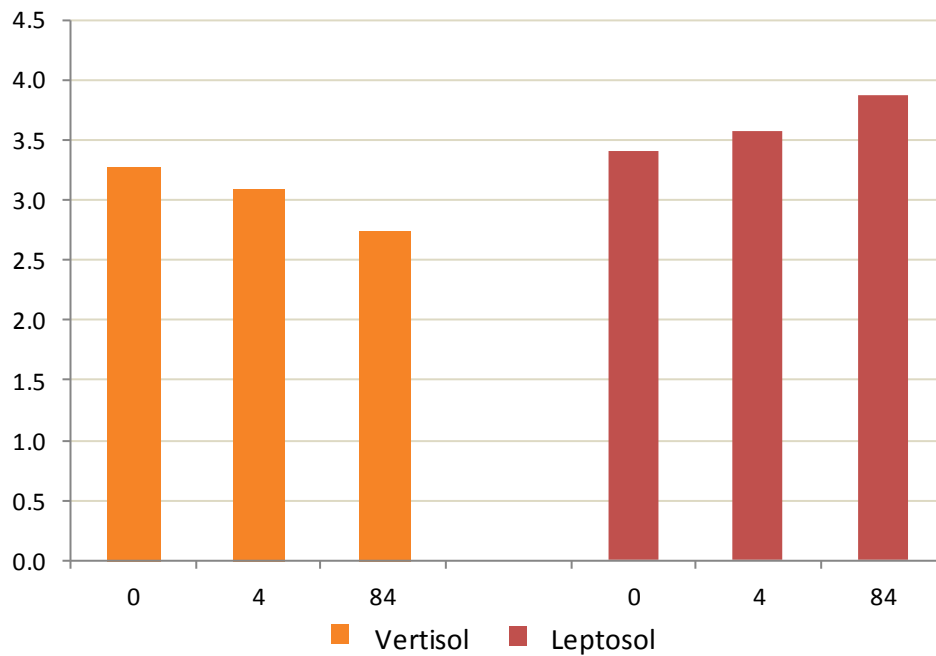


Figura. 11 Porcentaje de N en Ah purificados de acuerdo al tiempo de riego con agua residual.

## 7.5. Espectros Infrarrojos

Las figuras 12 y 14, muestran los espectros infrarrojos de los Ah de los suelos Vertisol y Leptosol regados con aguas residuales durante 4 y 84 años; así como los correspondientes a los suelos de temporal (sin riego). Las asignaciones de las diferentes bandas observadas en los espectros infrarrojos de ambos suelos se realizaron según interpretaciones sugeridas por trabajos relacionados al estudio de Ah (Ver anexo, la tabla general de la asignación de bandas). Por otra parte, las figuras 13 y 15, muestran las 2ª derivadas de los espectros originales.

### 7.5.1. Descripción de Bandas

#### Leptosol

La adición de aguas residuales durante 4 años aumentó la intensidad de la banda cercana a los  $3230\text{ cm}^{-1}$ , las cuales son atribuidas a la tensión del enlace H unido al grupo O-H de alcoholes y fenoles. La banda de absorción alrededor de los  $3080\text{ cm}^{-1}$ , puede ser parcialmente atribuida a la tensión de N-H de amidas secundarias, de la tensión de grupos metileno terminal (tensión asimétrica de grupo C-H aromático); la cual incrementa de 0 a 84 años de riego. Dos pequeños picos alrededor de los  $2940\text{ cm}^{-1}$  y  $2840\text{ cm}^{-1}$  (tensión simétrica de C-H alifático), presentan un incremento con el riego de aguas negras siendo mayor a los 84 años de riego.

El incremento de la banda a los  $1700\text{-}1735\text{ cm}^{-1}$ , así como la banda cercana a los  $1238\text{-}1248\text{ cm}^{-1}$  revela la presencia de grupos C=O carboxílicos ó de grupos quetónicos, los cuales presentan una amplitud similar a los 4 años y 84 años bajo riego. Una banda cercana a los  $1600\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$  es generalmente atribuida a la tensión de grupos C=C aromáticos y a la tensión simétrica de COO- de grupos amino (banda I), grupos quinónicos y/o de enlaces conjugados al H, la cual disminuye ligeramente de 0 a 4 años de riego. La presencia de la banda a  $1530\text{ cm}^{-1}$ , la cual es debida a la tensión de  $\text{NH}_2$  de grupos amida, solo se presentó en el espectro con 84 años de riego. Mientras que la banda presente a los  $1030\text{ cm}^{-1}$ , debido a la posible tensión de Si-O-Si ó a la tensión de C-O de polisacáridos ó sustancias similares, se presenta como un pico pronunciado a los 4 años de riego, disminuyendo a los 84 años.

Por otra parte, los fuertes picos cercanos a los  $3700\text{-}3650\text{ cm}^{-1}$ , así como  $850\text{-}970\text{ cm}^{-1}$  representan la tensión de silicatos de arcillas minerales.

## Vertisol

Una amplia banda cercana a los  $3230\text{ cm}^{-1}$ , referente a la tensión del H de alcoholes ó fenoles, se muestra a los 4 años riego, incrementando ligeramente a los 84 años. Por otra parte, un hombro cercano a los  $3500\text{ cm}^{-1}$ , debido a la tensión de cuerpos O-H, se presenta a los 4 años de riego, disminuyendo a los 84 años. Mientras que la tensión simétrica de C-H alifáticos dan lugar a dos pequeñas bandas cercanos a los  $2940\text{ cm}^{-1}$  y entre los  $2830$  y  $2860\text{ cm}^{-1}$ , las cuales decremantan a los 4 años de riego, e incrementa a los 84 años presentándose como picos prominentes.

Compuestos carbonílicos y carboxílicos se presentan en forma de picos bien definidos alrededor de los  $1720\text{ cm}^{-1}$  y  $1240\text{ cm}^{-1}$  en todas las bandas, siendo más prominente en la muestra de 4 años. Se observó el incremento de un pico cercano a los  $1600\text{ cm}^{-1}$ , atribuido a la tensión C=C de esqueletos aromáticos y/ó a la tensión de la banda amida I, el cual incrementa a los 84 años. Un pico pequeño a los  $1530\text{ cm}^{-1}$  en la muestra de 84 años refleja la presencia de  $\text{NH}_2$  de grupos amida. Las bandas de deformación por flexión del grupo metilo que aparecen a los  $1440\text{ cm}^{-1}$  y  $1350\text{ cm}^{-1}$  se observan en todas las muestras, incrementando a los 4 años de riego, y presentando una ligera disminución a los 84 años de riego.

Un ligero hombro cercano de los  $1040\text{ cm}^{-1}$  refleja la tensión de C-O de polisacáridos o a la posible tensión de Si-O-Si. Varios picos son observados en la región  $648$  y  $940\text{ cm}^{-1}$ , son atribuidos a la presencia de impurezas debidas a la deformación  $\text{SiO}_2$  y  $\text{Al}_2$ .

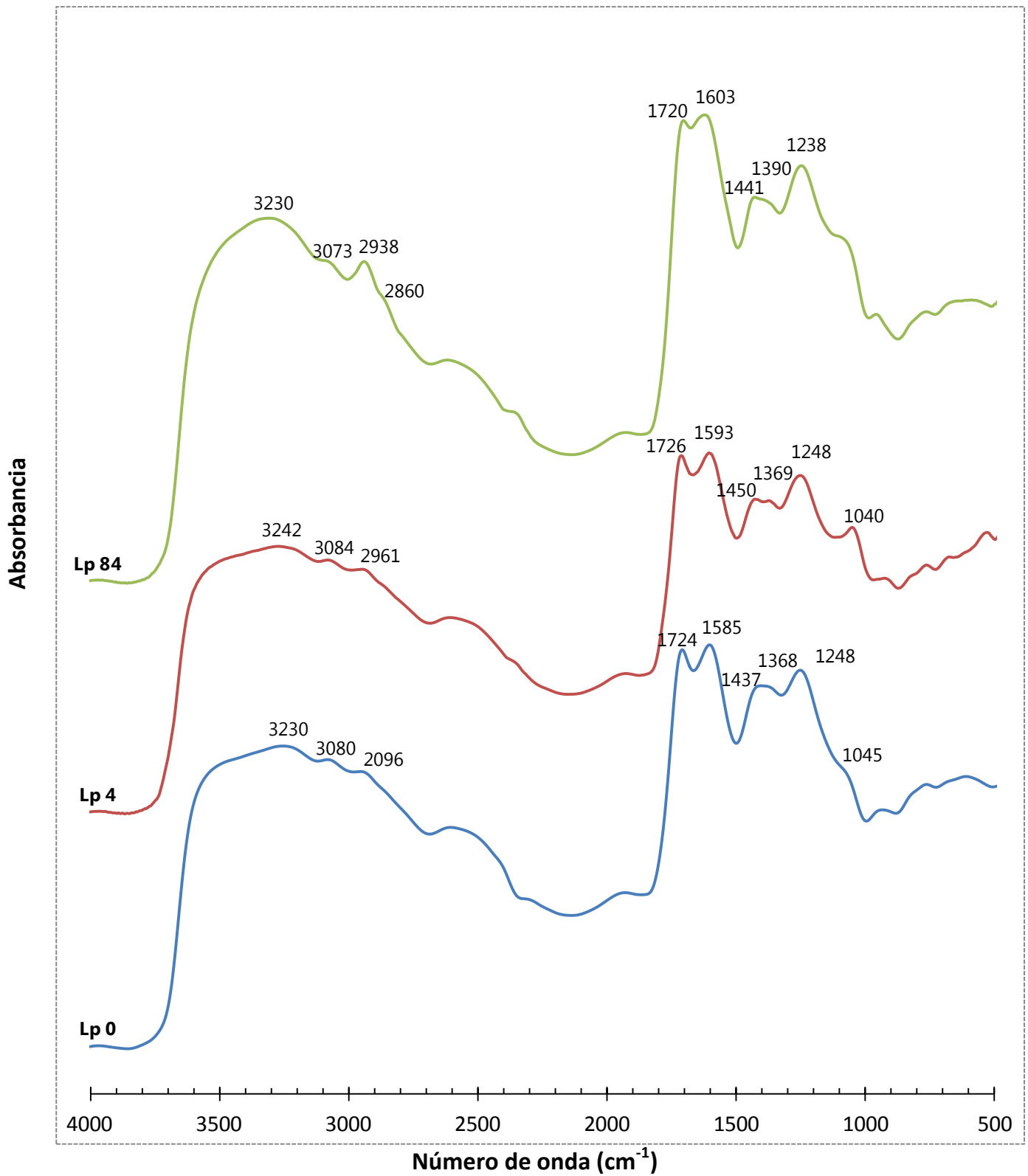


Figura. 12 Espectros infrarrojos de Ah del Leptosol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).

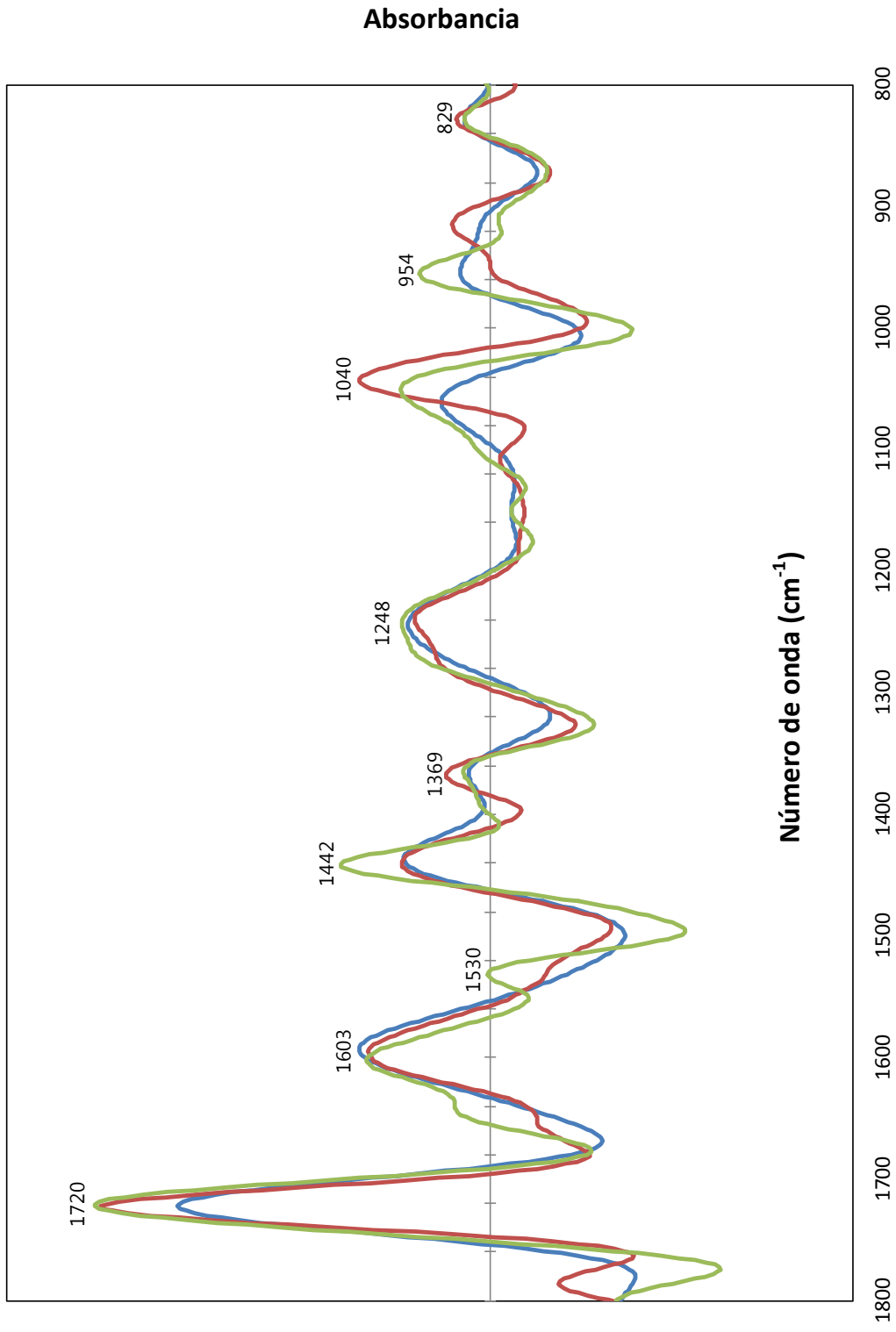


Figura. 13 Segunda derivada de Ah del Leptosol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).

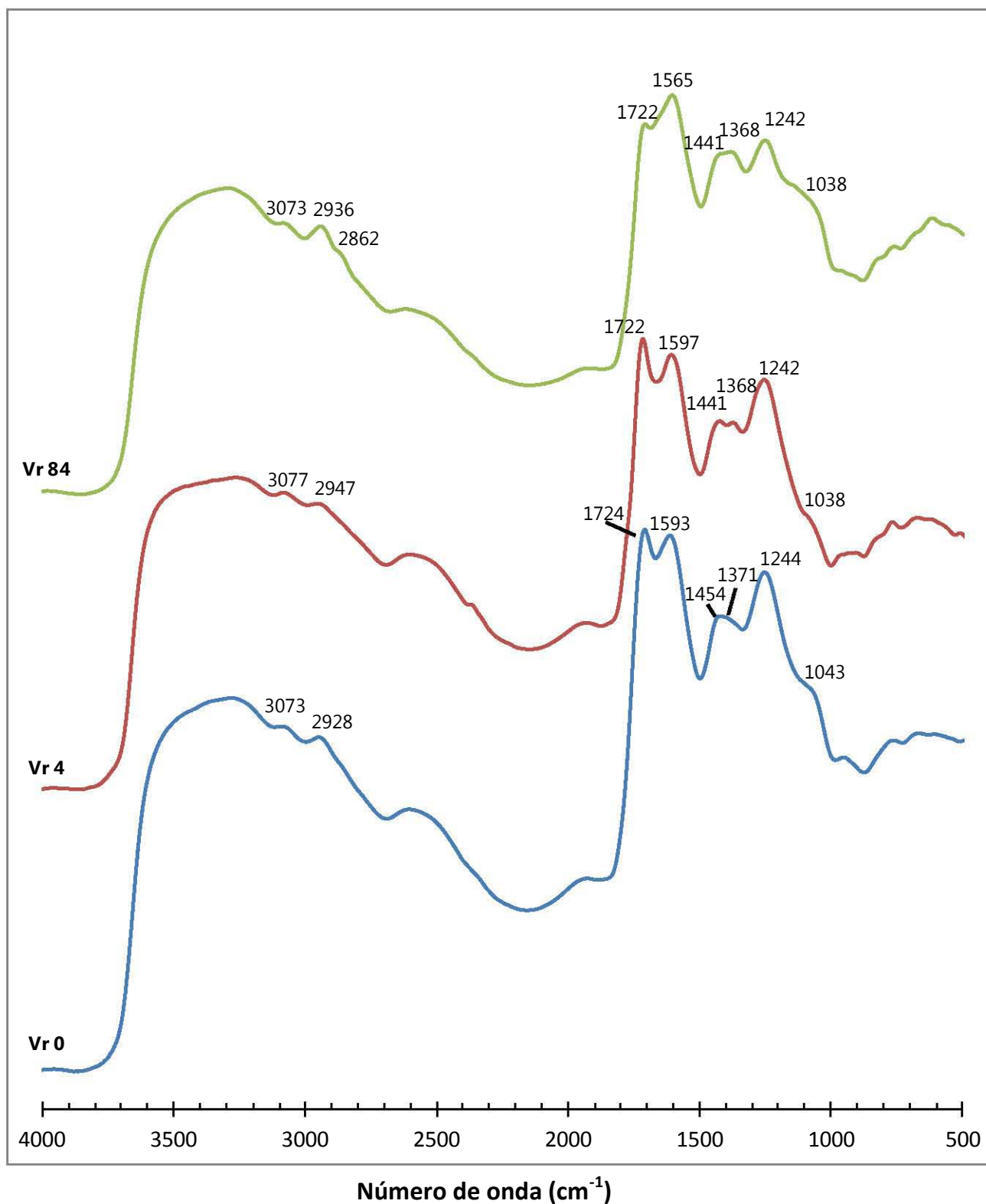


Figura. 14 Espectros infrarrojos de Ah del Vertisol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).

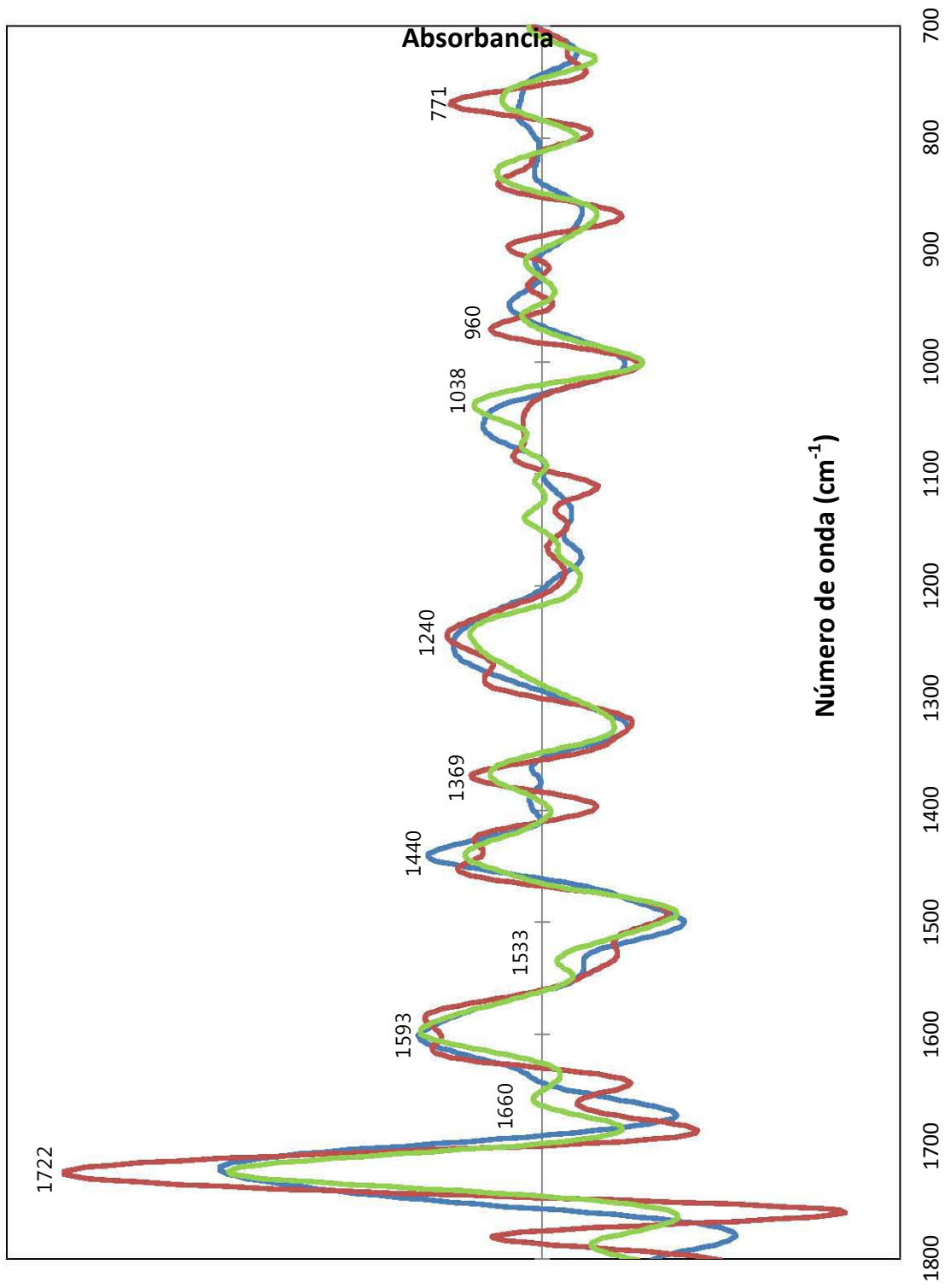


Figura. 15 Segunda derivada de Ah del Vertisol sin riego (Lp0) y regado por 4 (Lp4) y 84 años con agua residual (Lp 84).

---

## Discusión

### 8. 1 pH

Uno de los principales componentes que presenta el agua residual es la elevada concentración de sales disueltas, elementos que influyen en la disponibilidad de nutrientes, así como en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Hussain *et al*, 2002). Sin embargo, la magnitud de su efecto puede variar de acuerdo al origen del agua de riego, así como de las propiedades del suelo (Martínez, 2003). Generalmente, las aguas residuales tienen un pH próximo a la neutralidad. En el caso del Valle del Mezquital, la mezcla de residuos domésticos e industriales presentes en las aguas de riego ha dado valores de entre 7.5 y 8.4 de pH (Siebe y Cifuentes, 1995).

En el presente estudio, el ingreso de aguas residuales decremento los valores de pH con respecto a los suelos sin riego, siendo de 7 a 6.4 en el Leptosol y de 6.9 a 6.1 en el Vertisol. Estos resultados contrastan con lo encontrado con otros estudios, donde la mayoría de los trabajos reportan que la adición de aguas residuales al suelo produce un aumento significativo del pH (por ejemplo Siebe, 1994; Friedel *et al.*, 2000; Ramírez-Fuentes, *et al.*, 2002).

No obstante, existen trabajos que han observado una tendencia clara de los suelos hacia la acidez con el aumento de riego. Por ejemplo en el Valle del Mezquital Ortíz-Hernández *et al.*, (1999) determinaron que con la adición de lodos residuales sobre un suelo de tipo Vertisol, el pH disminuyó ligeramente con respecto al suelo antes de la adición de lodo. Por otro lado Chapela en 2011, del cual se obtuvieron algunas muestras de suelo para este trabajo, donde los valores que iban de 6.33 a 8.24 en un total de 92 muestras con diferentes periodos de riego, observó esta misma tendencia hacia la acidez en las mismas unidades de suelo, presentando la mayor disminución de pH en el Vertisol regado por 84 años. Ella considera que el contenido de carbonatos, el cual se encontró en mayor cantidad en el Leptosol, así la dosis de aplicación de aguas residuales, son factores que pueden estar involucrados en la respuesta del pH en el suelo. Del mismo modo, González-Ubierna y colaboradores (2012), observaron que la aplicación de una alta dosis (160 mg ha<sup>-1</sup> en peso seco) de tres tipos de enmiendas orgánicas: lodos residuales digeridos aeróbicamente (AE), lodos residuales digeridos anaeróbicamente (AN) y



desechos sólidos municipales compostados (MSWC) aplicados en suelos de tipo calcáreo (Fluvisoles), causó un decremento en el pH del suelo así como un incremento en la CE después de 9 meses del tratamiento; principalmente en aquellas muestras enmendadas con AN; concluyendo que la reducción del pH puede estar relacionada a la formación de ácidos orgánicos procedentes del incremento de la actividad microbiana por la degradación de lodos.

Aunque no se pueda establecer aún una relación clara, la tendencia hacia la acidificación en ambas unidades podría explicarse debido a varios procesos involucrados. Carrasco (1992) considera que el pH podría disminuir por el aumento en la presión parcial de CO<sub>2</sub> presente en la atmosfera del suelo, la cual se combina con agua formando ácido carbónico, que al disociarse genera H<sup>+</sup> libres que acidifican el suelo, éste fenómeno podría aumentar principalmente en suelos cercanos a la neutralidad o que tienen cantidades altas de carbonatos y bicarbonatos como los que se presentan en la zona de estudio (1 a 3 %; Siebe, 1994). Sin embargo, Cornejo Oviedo *et al* (2012), consideran que la disminución del pH pueda deberse más a la deposición de contaminantes de la emisiones atmosféricas producidas por la zona industrial.

Por otro lado, González (2013), reconoce que otro factor igualmente importante es el contenido de compuestos húmicos, los cuales fungen como elementos absorbentes, incluso de 4 a 5 veces más activos que las arcillas. En este caso, la materia orgánica, derivada del continuo aporte con aguas residuales, se mineraliza a través de los años aportando grupos carboxílicos y fenólicos que se comportan como ácidos débiles en la superficie del suelo, lo cual favorece que exista una mayor acidez en éste. Es posible que el continuo aporte de componentes húmicos sumado al alto contenido de arcillas, permita una mayor resistencia a la acidificación en el Vertisol que el Leptosol.

## **8.2 Conductividad eléctrica del suelo**

La conductividad eléctrica del suelo (CE) en este trabajo muestra un patrón claro hacia el incremento en ambos suelos con conductividades eléctricas que van de 0,45 a 1,13 dS/m; valores que se encuentran dentro lo reportado por la mayoría de trabajos consultados para sistemas similares (Vaca *et al*, 2006; Sánchez, 2008). Éste comportamiento está dado por las condiciones semi áridas de ésta zona donde, debido a la falta de precipitación y elevada evapotranspiración, las sales no pueden lixiviarse lo cual resulta en una acumulación de estas en la superficie

incrementando la conductividad eléctrica del suelo (Senesi *et al*, 1996; Sparks, 2003).

Sin embargo, la mayoría de los estudios consultados que hacen referencia al Valle del Mezquital, no reportan una tendencia clara de la CE. Al respecto, Palacio-Prieto *et al.*, (1994), encontraron una alta variabilidad no sólo en el promedio de los años, sino también en cada uno de los sitios de las muestras colectadas en el Valle del Mezquital. Así también, Chapela (2011) observó que las muestras regadas con aguas negras durante distintos periodos de tiempo no presentan un patrón claro en la CE, atribuyendo este comportamiento al contenido de humedad de las muestras de suelo colectadas. Lo anterior debido a que una vez que se ha aplicado el agua residual al terreno, una parte del agua se puede lixiviar, por lo que la CE disminuye debido al lavado de sales. No obstante, si la muestra se colectó poco tiempo después de la adición de aguas residuales, es de esperarse que exista una mayor concentración de sales en la superficie (Cayetano-Salazar, 2010; Chapela, 2011). Es posible que la variación a los 84 años de riego se deba a este mismo factor pues, como se había mencionado anteriormente, algunas muestras para este trabajo fueron tomadas del estudio de Chapela (2011). De ello podemos concluir que los resultados de este trabajo pueden deberse al tiempo transcurrido desde que se aplico el último riego y el momento en que se colecto la muestra

### **8.3 Relación E4/E6**

Las densidades ópticas obtenidas es éste estudio mostraron valores similares a los reportados para Ah (valores menores a 5, Stevenson, 1994). En ambos casos, el ingreso de aguas negras aumentó los valores de esta relación a los 4 y 84 años de riego; siendo comparativamente mayor en el Leptosol, respecto al Vertisol. Esto refleja un menor grado de condensación aromática y la presencia de proporciones relativamente mayores de estructuras alifáticas respecto al suelo sin riego (Chent *et al.*, 1977). El incremento de esta relación podría estar relacionado con la adición de material fácilmente degradable y menos condensado (Lopera, 2005; Herre *et al.*, 2004); el cual incorpora materiales proteicos dentro de la fracción de Ah, donde las fracciones alifáticas predominan sobre los núcleos aromáticos. (Senesi *et al.*, 1996). De acuerdo a Huang *et al.*, (2006), con el tiempo, las relaciones ópticas disminuyen sugiriendo que los carbohidratos y las quinonas son mineralizados, y los

compuestos fenólicos oxidados y enlazados a grupos metoxil y/o a los sitios de cadenas alifáticas en las sustancias húmicas. En el caso del Vertisol, la densidad óptica parece permanecer estable, mostrando dimensiones y pesos moleculares muy similares a los 84 años. No así en el Leptosol, donde se presenta la mayor relación asociada a moléculas de menor complejidad y mayor grado de alifaticidad.

## **8.4 Carbono Orgánico**

El riego con aguas residuales incrementó los contenidos de C org con respecto a los suelos sin riego. Estos resultados concuerdan con la mayoría de los trabajos consultados referentes al uso de enmiendas orgánicas, los cuales afirman que la adición continua de residuos orgánicos aumenta el contenido de MOS (Piccolo *et al.*, 1992; Ellerbrock *et al.*, 1999; Pedra *et al.*, 2008). La mayor acumulación de C org fue observada a los 4 años de riego, siendo mayor en el Leptosol que en el Vertisol; mientras que a los 84 años de riego solo se observó un incremento ligero llegando, en ambos casos, a valores similares. Un comportamiento similar fue observado por Chapela (2011) quien, con la adición de aguas residuales durante varios periodos en los suelos Vertisol y Leptosol del Valle del Mezquital, observó que el % de C org incrementó de entre 60 y 100 %, en los primeros 20 años de riego, comparada con el resto de los periodos donde el contenido de C org parece aumentar lentamente hasta llegar a ser constante entre los 80 y 100 años de tiempo bajo riego. Sin embargo hay que señalar que estas mayores cantidades de C org detectadas en los suelos regados no corresponden únicamente al C inicialmente aportado por el agua residual, sino que también contribuyen a este "pool" de carbono los aportes derivados de los exudados radiculares y restos vegetales procedentes de la vegetación espontánea y cultivada en estos suelos.

## **8.5 Composición elemental y relaciones atómicas de los Ah**

Los porcentajes de los elementos estudiados en los ácidos húmicos procedentes de estos suelos están dentro de los rangos encontrados en la bibliografía (Schnitzer, 1978; Riffaldi *et al.*, 1983). Al igual que el % de C org, la adición de aguas negras permitió en ambos suelos incrementar la cantidad de C dentro de la estructura de Ah durante los primeros años. Posiblemente la continua adición de aguas negras aumentó sólo las fracciones de carbono de las formas lábiles, es

decir, menos complejas que los suelos (Pedra *et al.*, 2008); por lo que no alteró de modo drástico, a largo plazo, es decir a los 84 años años, los enlaces asociados a grupos funcionales de C. Esto contrasta con otros trabajos consultados, los cuales indican que todas las fracciones de carbono se incrementan tras la aplicación de las enmiendas.

Por otra parte, el % de N parece variar con el tipo de suelo. La mayor proporción de N en el Leptosol con respecto al suelo sin riego, así como el decremento de la relación C/N, puede ser probablemente atribuida a los altos niveles de productos originados de la descomposición de proteínas provenientes de las aguas residuales, los cuales introducen estos compuestos en la molécula de los Ah nativos del suelo (Senesi *et al.*, 1996). De acuerdo a Baddi y colaboradores (2004), los niveles altos de N son indicativos de altos contenidos de bio-moléculas no humificadas (polisacáridos y polipeptidos) en el material Ahamadou *et al.*, (2013). Estos resultados coinciden con la relación E4/E6 del Leptosol, los cuales muestran una tendencia a incrementar la concentración de moléculas poco humificadas; con excepción de la muestra de 65 años de riego la cual mostró la relación más baja de C/N comparada con los suelos control y el resto de los suelos tratados, mostrando un mayor grado de humificación (Tan, 2011; Ahamadou *et al.*, 2013).

Por otro lado, el porcentaje de N varió con el tipo de suelo. El decremento en el % de N del suelo Vertisol puede ser explicado por un agotamiento de la reserva de N. De acuerdo a Almendros y Hernández (2009), la inmovilización biológica del N puede producirse cuando se aplica al suelo materia orgánica fácilmente biodegradable y con elevada relación C/N. Por su rápido desarrollo, los microorganismos edáficos aventajan a los cultivos en la competencia por el consumo de los elementos de la solución del suelo, llevando a que el N se convierta en un factor limitante para el crecimiento vegetal. Además, Perdomo y Barbazán (1992), consideran que los procesos de expansión y contracción de suelos como el Vertisol, además de la alternancia de períodos de secado y humedecimiento, aumentan la superficie específica expuesta a la acción de los microorganismos, desestabilizando la MOS y, por lo tanto, aumentando la velocidad de mineralización.

## 8.6 Espectros de absorción

Los espectros infrarrojos de los Ah de los suelos Vertisol y Leptosol fueron similares a los espectros de Ah reportados por estudios con tratamientos de enmiendas orgánicas, los cuales son típicamente caracterizados por absorciones más intensas de grupos alifáticos (alrededor de  $2920\text{ cm}^{-1}$ ,  $2850\text{ cm}^{-1}$ , y  $1460\text{ cm}^{-1}$ ), grupos carbonilo de amidas (banda II  $1560\text{-}10\text{ cm}^{-1}$ ), polisacáridos ( $1040\text{-}30\text{ cm}^{-1}$ ) y absorciones de grupos carbonilo y carboxilo ( $1710\text{-}20\text{ cm}^{-1}$ ); que aquellos Ah de suelos nativos (Senesi *et al.*, 2007).

Con respecto a los suelos sin riego, los espectros infrarrojos de ambos suelos mostraron un marcado incremento en el contenido de grupos alifáticos ( $2920\text{ cm}^{-1}$ ,  $2850\text{ cm}^{-1}$  y  $1460\text{ cm}^{-1}$ ), mismo que se observó en el caso del Leptosol por el aumento en la densidad óptica (E4/E6) a los 4 y 84 años. No así en el Vertisol, donde sólo se reflejó a los 4 años de riego. De acuerdo a lo reportado por varios trabajos (Rovira *et al.*, 2002; Réveill   *et al.*, 2003; Levy, 2011 y Stevenson, *et al.*, 2003), los Ah extraídos de los suelos enmendados son caracterizados por estructuras más alifáticas, así como la presencia de ácidos grasos y ceras originadas de las aguas residuales, las cuales son parcialmente acumuladas por la incorporación a los Ah de los suelos nativos (Dignac *et al.*, 2000). Estos resultados muestran por tanto que el riego con aguas residuales alteró, particularmente, la calidad de la fracción húmica del Leptosol con respecto al Vertisol.

La adición de aguas residuales en ambos suelos también incrementó el contenido de grupos carboxilo ( $1700\text{-}1720\text{ cm}^{-1}$  y  $1220\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$ ), mismo que parece incrementar en los primeros 4 años de riego en el Vertisol, disminuyendo en los subsiguientes años; mientras que en el Leptosol éste aumento es constante. Estos resultados coinciden con la relación E4/E6, la cual está directamente relacionada con el aumento en el contenido de grupos COOH de la molécula de Ah (Stevenson y Goh, 1971; Celi *et al.*, 1997). De acuerdo a Ahamadou *et al.* (2013) y a Smith y Meissl, (2007); el incremento de estos picos infiere la presencia de los primeros productos metabólicos como aldehídos, quetonas y esteres, así como a la acumulación de ácidos grasos, de los cuales son característicos el material fresco. Dichos grupos proveen a las sustancias húmicas sitios de intercambio que, en combinación con las propiedades coloidales del suelo, pueden formar complejos

que hacen que las sustancias húmicas pueden disolver, movilizar y transportar tanto componentes orgánicos como inorgánicos y acumularlo en ciertos horizontes del suelo (Bot y Benites, 2005).

Por otro lado, se observó un incremento en intensidad de las bandas a  $1660\text{ cm}^{-1}$  (amida banda I) y  $1530\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$  (amida banda II) en las muestra con 84 años de riego de ambos suelos. El incremento de estas bandas se encuentra asignada a compuestos nitrogenados procedente de cadenas peptídicas que forman parte de grupos amidas, indicando estructuras condensadas de naturaleza aromática así como un mayor contenido de proteínas en los Ah en estos periodos (Senesi *et al.*, 1929). La presencia la banda  $1030\text{ cm}^{-1}$  muestra además, un enriquecimiento de patrones de lignina los cuales, debido su alta resistencia a la descomposición microbiana se acumulan en el suelo, induciendo a la formación de cadenas orgánicas complejas que se polimerizan y forman parte de las sustancias húmicas (Tan, 1998; Almendros y Hernández, 2009). Esta banda, también refleja la presencia de compuestos lábiles de C, tales como carbohidratos provenientes de celulosa y hemicelulosa característicos de los materiales compostados (Adani y Tamboe, 2005). Estos resultados, junto con la obtenida por la relación E4/E6, muestran por tanto un incremento en el grado de policondensación aromática y en el proceso de humificación con el incremento en los años de riego.

Otra forma de analizar lo datos es a partir de la localización de los picos de los grupos funcionales. En el Leptosol, el ambiente estructural de los Ah cambia a los 65 años de riego. Fuertes bandas inorgánicas presentes a los  $3700\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  y  $1000\text{ cm}^{-1}$ , reflejan el incremento de materiales inorgánicos en está muestra. De acuerdo a Smith y Meissl (2007), un bajo contenido de materia orgánica resulta en una menor interacción de los compuestos orgánicos con el ambiente químico, lo cual se refleja en el espectro con la disminución de los grupos funcionales que contienen C (bandas metil C-H  $2920\text{ cm}^{-1}$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$ ), y con el incremento de las bandas atribuidas a compuestos inorgánicos (vibraciones Si-O, arcillas). Esto podría explicar por qué ésta muestra presenta los valores más bajos de C orgánico y C elemental.

Los efectos de la adición de aguas residuales aún se reflejan en la muestra de Ah con 84 años del Leptosol, el cual presenta picos con mayor intensidad de las bandas atribuidas a grupos carboxílicos y alifáticos ( $1720\text{ cm}^{-1}$ ,  $1380\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$

,1240-1260  $\text{cm}^{-1}$ ), además de una menor grado de condensación (E4/E6) comparado con la muestra de 4 años del mismo suelo. Esto podría indicar que a largo plazo, la estructura y las propiedades funcionales de los Ah del Leptosol se ven más afectadas por la adición a guas negras comparadas con el suelo Vertisol donde el cambio en el ambiente estructural es menos evidente. Esta hipótesis se ve reforzada dado que la relación E4/E6 no muestra cambios importantes dentro de la estructura de Ah en el Vertisol. Además, los espectros muestran picos e intensidades similares a los del suelo sin riego por lo que posiblemente la protección dada por la matriz del suelo retarda la alteración de la fracción de Ah, generando en todos los periodos productos similares. Éste comportamiento también podría indicar que, después de varios años de riego, se ha llegado a un equilibrio entre la entrada, la acumulación y la movilización de la materia orgánica mostrando una composición, estructura, y propiedades funcionales de las similares a aquellos suelos sin enmendar (Silva, 1995; y Senesi *et al.*, 2007). De acuerdo a Chapela (2011), las condiciones ambientales en el Valle del Mezquital como son el pH cercano al neutral, humedad suficiente en el suelo, buena aireación y temperaturas cálidas pueden acelerar los procesos de mineralización y descomposición, lo que podría promover la estabilización de la MOS. Sin embargo en éste estudio no se podría comprobar eso, por lo que tendría que realizarse un estudio más detallado.

## Conclusión

*Los resultados obtenidos indican que la composición elemental y estructura química de los ácidos húmicos de ambos suelos regados con agua residual son diferentes a las de los Ah del suelo de partida. En general, los Ah de los suelos regados por 4 años presentaron un aumento en la relación E4/E6, C org y C elemental de Ah, que los Ah del suelo control. El incremento de estos parámetros a los 4 años de riego, en ambos suelos se relacionó con la incorporación de productos metabólicos como aldehídos, quetonas, esteres y ácidos grasos de fracciones húmicas inestables y/o inmaduras provenientes de las aguas residuales. Estos resultados se han confirmado mediante los espectros IR, los cuales mostraron una mayor intensidad de absorción en las bandas correspondientes a grupos alifáticos y grupos carboxílicos que los Ah de los suelos control.*

*Por otro lado, el incremento en la densidad óptica (E4/E6, así como de bandas atribuidas a grupos carboxílicos y alifáticos a los 84 años de riego en el Leptosol indican que a largo plazo, la estructura y las propiedades funcionales de los Ah del Leptosol se ven más afectadas por la adición a guas negras. Mientras que en el Vertisol la estructura de Ah después de 84 años de riego, no parece tener cambios importantes, mostrando dimensiones y pesos moleculares muy similares a los suelos sin riego; lo que hace intuir una tendencia de estos suelos a un nuevo estado equilibrio.*



## Anexo

Tabla 3. Tabla general de picos de absorción encontrados en los Ah extraídos de suelos Leptosol y Vertisol regados con agua residual.

<b>Localización cm<sup>-1</sup></b>	<b>Vibración</b>	<b>Descripción</b>
3701	O-H de COO-	Tensión de grupos
3661	O-H	Alcoholes y fenoles (monómeros)
3230-3280	O-H	Alcoholes y fenoles (unidos por puentes de H)
3050-3080	C-H	Aromáticos
2940-2980	C-H	Metilenos alifáticos
2840-2860	C-H	Metilenos alifáticos
1700-1720	C=O	Aldehídos, quetonas, ácidos carboxílicos
1600-1630	C=O	Amida banda I
1600-1590	C=C	Esqueleto aromático
1570-1540	N-H en plano	Amidas
1505-1520	Esqueleto aromático	Lignina
1425-1450	C-H O-H	Metilenos alifáticos OH de grupos fenólicos

	COO-	Ácidos carboxílicos
1380-1384	N-O	Nitrato en muestras de desecho solidas
1360-1370	C-H O-H, C-O	Metilenos alifáticos Ácidos carboxílicos
1230-1240	C-O	Ácidos carboxílicos
1100-1020	C-O Si-O	Polisacáridos o sustancias similares. Cuarzo Arcillas minerales
900-970	-CH=CH2 Si-O Al-OH	Grupos vinilo Arcillas minerales Vibraciones de deformación
875	C-O fuera de plano	Carbonato
850-750	NH2 fuera de plano	Grupo amida primaria
750-700	S-O	Sulfatos inorgánicos
470		Identificación de minerales de Caolinita.
Senesi <i>et al</i> , 2003; Hesse <i>et al</i> , 2005 en Tatzber <i>et al</i> , 2007; Vaca Paulín, 2006; Tam <i>et al</i> , 1999; Davis, 1999; Madari <i>et al</i> , 2006; Rumpel <i>et al</i> , 2001; Baes y Bloom, 1989 en Beáta y Madarí <i>et al</i> , 2006; Heymann <i>et al</i> ; Pasto, 2003 y Celi <i>et al</i> , 1997.		

---

## Bibliografía

Adani F. y F. Tambone. 2005. Long-term effect of sewage sludge application on soil humic acids *Chemosphere* 60: 1214–1221.

Ahamadou, B., Q. Huang , L. Yaping and J. Iqbal. 2013. Composition and structure of humic substances in long-term fertilization experimental soils of southern China. *Journal of Soil Science and Environmental Management* 4(4), pp. 77-86.

Albiach, R., R. Canet, F. Pomares y F. Ingelmo. 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology* 2(76): 125–129.

Almendros, G. y Z. Hernández. 2009. La materia orgánica del suelo y su función en los agroecosistemas. Departamento de Ecología de Sistemas, Centro de Ciencias Medioambientales, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid. 1-35 pp.

Baddi, G. A., J. A. Albuquerque, J. González, J. Cegarra, M. Hafidi. 2004. Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 54(1): 39–44.

Bautista, Z. F., H. S. Cram, y C. I. Sommer. Suelos. 2004. En: Bautista, Z. F., G. H. Delfín, P. J. L. Palacio, C. M. de C. Delgado. Técnicas de muestreo para el manejo de los recursos naturales. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 73-97.

Bot, A. y J. Benites. 2005. The importance of soil organic matter: key to drought-resistant soil and sustained food and production. Food & Agriculture Org. FAO Soils, Boletín 80, Roma. 78 pp.

Carrasco, M.A., 1992. El suelo como sistema químico. En Vera W.: Suelos, una visión actualizada del recurso. Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 38, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, 345 p.

Carter, M. R. 2002. Soil quality for sustainable land management. *Agronomy Journal* 94: 38-47.

Cayetano, S. M. 2012. Transferencia suelo-planta de metales pesados en parcelas regadas con agua residual en el Valle de Mezquital. Posgrado Ciencias de la Tierra, UNAM, Tesis de Maestría.

Cayetano-Salazar. 2010. Cambio en las propiedades del suelo en un periodo de 20 años en una parcela regada con agua residual del Valle del Mezquital, México, D. F. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, Tesis de Licenciatura.

Celi, L., M. Schnitzer y M. Nègre. 1997. Analysis of carboxyl groups in soil humic acids by a wet chemical method, Fourier-transform infrared spectrophotometry, and solution-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. A comparative study. *Soil Science* 162(3):189-196.

Chapela, L. M. 2011. Variación temporal en el contenido de metales pesados en suelos regados con aguas residuales. Posgrado Ciencias de la Tierra, UNAM, Tesis de Maestría.

Chen, J., B. Gu, E. J. LeBoeuf, H. Pan y S. Dai. 2002. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere* 48: 59-68.

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

CNA, BGS, LSHTM y UB. 1998. Impact of wastewater reuse on groundwater in the Mezquital Valley, Hidalgo State, Mexico. Final Report. –August 1998. BGS Technical Report WC/98/42. En: Cayetano, M., B. I. Chuc, C. Ramírez, C. Díaz, E. Flores, E. Hernández, H. E. Luna, L. Chapela y M. Miranda. 2009. Informe del curso de campo de monitoreo ambiental: México, D. F., Laboratorio de Edafología Ambiental-Instituto de Geología-UNAM, Informe interno.

Cornejo-Oviedo. F. M.; M. López-Herrera, R. I. Beltrán-Hernández, O. A. Acevedo-Sandoval, C. A. Lucho-Constantino y M. I. Reyes-Santamaría. 2012. Degradación del suelo en el Distrito de riego 003 Tula, Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (4): 873-880.

Cruz M. A., P.M. A. Valera, M. C. I. Hidalgo y A. M. G. Tenorio. 2002. Calidad del Suelo y su Sustentabilidad. XX Curso Diplomado Internacional de Edafología "Nicolás Aguilera". Universidad Nacional Autónoma de México. 467-479 p.

Del Arenal, R. 1978. Carta hidrogeológica del área de Actopan-Ixmiquilpan, Estado de Hidalgo. *Univ. Nal. Autón, México. Inst. de Geología.* 2(1): 98-103.

Dignac, M. F., P.Ginestet, D. Rybacki, A. Bruchet, V. Urbain y P. Scribe. 2000. Fate of wastewater organic pollution during activated sludge treatment: nature of residual organic matter. *Water Research* 34(17): 4185-4194.

Dunjó, G., Pardini, G. and Gispert, M., 2003. Land use change effects on abandoned terraced soils in a Mediterranean catchment, NE Spain. *Catena* 52, 23-37.

Ellerbrock, R.H., Höhn, A., Rogasik, J., 1999. Functional analysis of soil organic matter as affected by long-term manurial treatment. *European Journal of Soil Science* 50, 65–71.

Fassbender, H. W. 1994. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. IICA, 2ª edición, Costa Rica. 420 pp.

Fernández J. M., C. Plaza, A. Polo y A. F. Plante. 2012. Use of thermal analysis techniques (TG-DSC) for the characterization of diverse organic municipal waste streams to predict biological stability prior to land application. *Waste Manager* 32: 158-64.

Friedel, J. K. T. Langer, C. Siebe y K. Sthar. 2000. Effects of long-term wastewater irrigation on soil organic matter, soil microbial biomass and its activities in central Mexico. *Bio Fertil Soils* 31: 414-421.

Gaffney, S. J., N. A. Marley y S. B. Clark. 1996. Humic and fulvic acids and organic colloidal materials in the environment. En: ACS Symposium Series Vol. 651. American Chemical Society, Washington. 2-17 pp.

García-Gil, J. C., C. Plaza, N. Senesi, G. Brunetti y A. Polo. 2004. Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. *Biology and Fertility of Soils*. 39(5): 320-328.

González, Q. L. 1967. Flora polínica y tipos de vegetación del Valle del Mezquital. Tesis, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Ciudad de México. En: Cayetano, M., B. I. Chuc, C. Ramírez, C. Díaz, E. Flores, E. Hernández, H. E. Luna, L. Chapela y M. Miranda. 2009. Informe del curso de campo de monitoreo ambiental: México, D. F., Laboratorio de Edafología Ambiental-Instituto de Geología-UNAM, Informe interno.

González, U. S. 2013. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos biodegradables y el clima mediterráneo sobre el ciclo del carbono en un suelo agrícola calcáreo. Universidad Complutense de Madrid. Tesis de Doctorado.

González-Ubierna, S., I. Jorge-Mardomingo, B. Carrero-González, M. T. de la Cruz y M. A. Casermeiro. 2012. Soil organic matter evolution after the application of high rates of organic amendments in a Mediterranean calcareous soil. *Journal of Soils and Sediments* 12 (8): 1257-1268.

Guimarães, D.V., M.I.S. Gonzaga, T.O. Silva, T.L. Silva, N.S. Dias y M.I.S. Matias. 2013. Soil organic matter pools and carbon fractions in soil under different land uses. *Soil & Tillage Research*, v. 126:177–182.

Gutiérrez-Ruíz, M. E. , C. Siebe, E. Cifuentes e I. Sommer. 1995. Environmental aspects of land application of wastewater from Mexico City metropolitan area: a bibliographical review and analysis of implications. *Environmental Reviews* 3, 318-330.

Hayes, M. H. B. y R. S., Swift. 1990. Genesis, isolation, composition and structures of soil humic substances. In *Soil Colloids and their associations in aggregates*. DeBoodt, M.H.B. Hayes, and A. Herbillon (eds), 1990. Soil Colloids and Their Associations in Aggregates. Plenum, New York and London, pp. 245- 305.

Herre, A., C. Siebe y M. Kaupenjohann. 2004. Effect of irrigation water quality on organic matter, Cd and Cu mobility in soils of central México. *Water Science and Technology* 50(2):277–284.

Heymann, K., H. Mashayekhi y B. Xing. 2005. Spectroscopic analysis of sequentially extracted humic acid from compost. *Spectroscopy Letters* 38 (3): 293-302.

Huang, G.F., Q.T. Wu, J.W.C. Wong y B.B. Nagar. 2006. Transformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology* 97(15). 1834–1842.

Hussain, I., L. Rashid, M.A. Hanjara, F. Marikar y W. Van Der Hoek, 2002. Wastewater reuse in agriculture, Working Paper, 37. *International Water Management Institute*, Colombo, Sri Lanka.

International Humic Substances Society. 2007. What are humic substances?. Disponible en: <http://www.humicsubstances.org/whatarehs.html>. Fecha de acceso: diciembre 2011.

Jackson, W. R. 1993. Humic, fulvic and microbial balance: organic soil conditioning. Jackson Research Center Publisher, Colorado. 270 pp.

Jiménez, C. B. y V. H. Landa. 1998. Physico –chemical and bacteriological characterization of wastewater from Mexico City. *Water Science and Technology* 37:1-8.

Julca-Otiniano, A. L. Meneses-Florián, R. Blas-Sevillano y S. Bello-Amez. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *IDESIA (Chile)* 24: 49-61.

Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F. y Schuman, G.E. 1997. Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation. *Soil Science Society of America J.* 61: 4-10.

Kononova, M. 1982. *Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Oikos-Tau. Barcelona. 365 pp.

Kumada, K. 1987. *Chemistry of soil organic matter*. Japan Scientific Societies Press and Elsevier Science Publishers, Japan. 237 pp.

Labrador, M. J. 2002. *La Materia orgánica en los agrosistemas: aproximación al conocimiento de la dinámica, la gestión y la reutilización de la materia orgánica en los Agrosistemas*. Mundi-Prensa Libros, España. 293 pp.

Lal, R. 1994. *Métodos y normas para evaluar el uso sostenible de los recursos suelo y agua en el trópico*. Corpoica, Bogotá. 96 pp.

Lavelle, P. y A. V. Spain. 2005. *Soil ecology*. Springer, Netherlands. 645 pp.

Levy, G., P. Fine y A. Bar-Tal. 2011. *Treated Wastewater in agricultura: use and impacts on the soil environment*. John Wiley & Sons. 464 pp.

Manlay, R. J., C. Feller y M.J. Swift. 2007. Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationships with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 119 (3): 217-233.

McLaren and G. H. Peterson. 1969. *Soil Biochemistry*. Vol. 1. Ed. Marcel Dekker. New York. 119-146 pp.

Ortiz-Hernández, M. L., E. Sánchez-Salinas y M. Gutiérrez-Ruiz. 1999. Efecto de la adición de lodos residuales sobre un suelo agrícola y un cultivo de maíz. *Rev. Int. Contam. Ambient* 15(2): 69-77.

Palacio-Prieto, J. L., C. Siebe-Grabach y A. Cortés-Anaya. 1994. Variabilidad y distribución espaciales de algunos parámetros físicos y químicos del suelo en el Distrito de Riego 03, Estado de Hidalgo, México; Parte 1, Semivariogramas. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 11(1):62-67.

Pansu, M. y J. Gautheyrou. 2006. *Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods*. Springer, Netherlands. 993 pp.

Pasto, D. J. y C. R. Johnson. 2003. *Determinación de estructuras orgánicas*. Reverté, España. 570 pp.

Pedra, F., C. Plaza, J. M. Fernández, J. C. García-Gil, A. Polo. 2008. Effects of municipal solid waste compost and sewage sludge on chemical and spectroscopic properties of humic acids from a Sandy Haplic Podzol and a clay loam Calcic Vertisol in Portugal. *Waste Management* 28: 2183–2191.

Perdomo C. y M. Barbazán. 1992. Nitrógeno. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Área de suelos y aguas Cátedra de Fertilidad. Montevideo, Uruguay. 69 pp.

Pérez, G. R. A., C. C. R. Ramírez, G. K. A. Vázquez, y G. S. M. Ortiz. 2002. Impactos al agro por los recursos hídricos en el Valle del Mezquital, Hidalgo. En: Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. AIDIS, Memorias, México. FEMISCA. 1-11 pp.

Piccolo, A., P. Zaccheo y P.G. Genevini. 1992. Chemical characterization of Humic substances extracted from organic-waste-amended soils. *Bioresource Technology* 40:275-282.

Prieto-García, F., C. A. Lucho-Constantino, H. Poggi-Valardo, M. Álvarez-Suárez y E. Barrado- Esteban. 2007. Caracterización fisicoquímica y extracción secuencial de metales y elementos traza en suelos de la Región Actopan-Ixmiquilpan del Distrito de Riego 03, Valle del Mezquital, Hidalgo México. *Ciencia Ergo Sum* 14 (1): 69-80.

Ramírez-Fuentes, E., C. Lucho-Constantino, E. Escamilla-Silva y L. Dendooven. 2002. Characteristics, and carbon and nitrogen dynamics an soil irrigated with wastewater for different lengths of time. *Bioresource Technology* 85: 179-187.

Réveillé V., L., Mansuy, É. Jardé y É. Sillam. 2003. Characterization of swage sludge-derived organic matter: lipids and humic acids. *Organic Geochemistry* 34(4):615-627.

Riffaldi, R., R. Levy-Minzi, A. Saviozzi. 1983. Humic fractions of organic wastes. *Agric ecosystems environment* 10: 353-359.

Robert, M. 2002. Captura de carbono en los suelos para un mejor manejo de la tierra. Food & Agriculture Org. FAO Soils, Boletín 96, Roma. 61 pp.

Ros, M., M. T. Hernández y C. García. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 35(3): 463-469.

Rosa, A. H., L. C. D. Oliveira, I. C. Bellin, J. C. Rocha y L. P. C. Romão. 2005. Influence of alkaline extraction on the characteristics of humic substances in Brazilian soils. *Thermochimica acta*, 433: 77-82.

Rovira P. y V.R. Vallejo. 2002. Labile and recalcitrant pools of carbon and nitrogen in organic matter decomposing at different depths in soil: an acid hydrolysis approach. *Geoderma*. 107(1-2): 109-141.



Saiz-Jimenez, C. 1996. The chemical structure of humic substances, recent advances En: Piccolo, A. Humic substances in terrestrial ecosystems. Elsevier, Netherlands 675 pp.

Sánchez, G. A. 2008. Cambios en la calidad de la materia orgánica disuelta en suelos regados con agua residual. Posgrado en ciencias de la Tierra, UNAM, Tesis de maestría.

Schlichting, E. y H. P. Blume. 1966. Bodenkundliches practicum, Verlag Paul Parley, Hamburgo und Berlin.

Schnitzer, M. y S. U. Khan. 1978. Soil organic matter. Elsevier Science Publishers B. V. Netherlands. 311 pp.

Senesi, N. y C. Plaza. 2007. Role of humification processes in recycling organic wastes of various nature and sources as soil amendments. *Clean* 35: 26 – 41.

Senesi, N., C. Plaza, G. Brunetti y A. Polo. 2007. A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendments and effects on native soil humic substances. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 1244-1262.

Senesi, N., T. M. Miano y G. Brunetti. 1996. Humic-like substances in organics amendments and effects on native soil humic substances En: Piccolo, A. Humic substances in terrestrial ecosystems. *Elsiever*. 665 pp.

Siebe, C. y E. Cifuentes. 1995. Environmental impact of wastewater irrigation in central Mexico: an overview. *International Journal of Environmental Health Research* 5: 161-173.

Siebe, C., 1994. Acumulación y disponibilidad de metales pesados en suelos regados con aguas residuales en el distrito de riego 03, Tula, Hidalgo, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 10:15-12.

Siebe, C., G. Bocco, J. Sánchez y A. Velázquez. 2003. Suelos: distribución, características y potencial de uso. En: Velásquez, A., A. Torres, y G. Bocco. Las enseñanzas de San Juan, investigación participativa para el manejo integral de recursos naturales. Instituto Nacional de Ecología, México, pp. 127-163.

Silva, A. 1995. La materia orgánica del suelo. Facultad de Agronomía, Montevideo. 46 pp.

Smidt, E. y K. Meissl. 2007. The aplicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. *Waste Management*. 27: 268-276.

Sparks, L. D. 2003. Environmental soil chemistry. Academic Press, USA. 352 pp.

Stevenson, F. J. 1994. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. John Wiley & Sons, 2ª edición, USA. 489 pp.

Stevenson, F. J. y Goh, K. M. (1971). Infrared spectra of humic acids and related substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 35 (5): 471-483.

Stevenson, F. J. y M. A. Cole 1999. Cycles of soil: Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. John Wiley & Sons, 2ª edición, Canada. 427 pp.

Tan, K. H. 2003. Humic matter in soil and the environment, principles and controversies. Marcel Dekker Inc, New York. 408 pp.

Tan, K. H. 2011. Principles of soil chemistry. CRC Press, 4ª edición, USA. 390 pp.

Tan, K.H., 1998. Colloidal chemistry of organic soil constituents. En: Tan, K.H. Principles of Soil Chemistry, Ed. Marcel Dekker, New York, 177–258 pp.

Tejada, M., M. T. Hernández y C. García. 2006. Application of Two Organic Amendments on Soil Restoration: Effects on the Soil Biological Properties. *Journal of environmental quality* 35: 1010-1017.

Thompson, L. M. y F. R. Troeh. 1988. Los suelos y su fertilidad. Reverté, España. 649 pp.

Tipping, E. 2002. Cation binding by humic substances. Cambridge University Press. 434 pp.

Vaca, P. R., De la F. J. Lugo y A. M. V. Esteller. 2006. Caracterización de la materia orgánica soluble y de los ácidos húmicos en suelo acondicionado con lodo residual fresco o compostado. *Rev. Int. Contam. Ambient* 22: 27-37.

Vaughan, D. y R. E. Malcolm. 1985. Soil organic matter and biological activity. Martinus Nijhoff/ Dr. W. Junk Publishers, Netherlands. 447 pp.

Vázquez, A. A., J. Cajuste, C. Siebe y L. Isla de Bauer. 2001. Cadmio, Níquel y Plomo en agua residual, suelos y cultivos en el valle del mezquital, Hidalgo, México. *Agrociencia. Colegio de Postgraduados* 35 (3): 267-274.

Viscarra, R. R. A., D. J. J. Walvoort, A. B. McBratney, L. J. Janik y J. O. Skjemstad. 2006. Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. *Geoderma* 131: 59-75.

Volke, S. T., T. J. A. Velasco y P. D. A. de la Rosa. 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. INE-Semarnat, México. 121 pp.

Zech, W., N. Senesi, G. Guggenberger, K. Kaiser, J. Lehmann, T. M. Miano, A. Miltner y G. Schroth. 1997. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma* 79: 117-161.