

Recibido: 23 de enero de 2013 • Aceptado: 8 de abril de 2013

Composición molecular de ácidos húmicos evaluada mediante pirólisis – cromatografía de gases – espectrometría de masas e hidrólisis térmica asistida y metilación en suelos altoandinos de Colombia

Resumen

Se determinó la composición molecular de ácidos húmicos (AH), extraídos del horizonte 'A' de suelos altoandinos de Colombia dedicados a tres usos: bosque primario, cultivos y praderas. Los AH se obtuvieron mediante extracción secuencial de la materia orgánica humificada (MOH) con soluciones de tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sodio (0,1N), y fueron purificados mediante diferentes procesos analíticos. Su composición molecular se determinó a través de Py-GC/MS y THMA. Los diferentes productos de la pirólisis se clasificaron atendiendo a la familia química a la que pertenecen; prevalecieron los ácidos grasos (FA) como el producto más abundante en los AH de todos los usos, mientras que los fenoles, esteroides, S-compuestos y terpenos se encontraron en menor abundancia. Se presentaron diferencias en los porcentajes de abundancia relativa de los grupos identificados, demostrando así que el cambio de uso de suelo influye en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, por lo que se perciben diferentes grados de transformación que afectan la composición de los AH y su reactividad en el suelo.

Palabras clave: ácidos húmicos, suelos altoandinos, pirólisis – cromatografía de gases – espectrometría de masas, hidrólisis térmica asistida, metilación.

Molecular composition of humic acids evaluated by pyrolysis – gas chromatography – mass spectrometry and thermally assisted hydrolysis and methylation in high Colombian Andean soils

Abstract

It was determined the molecular composition of humic acids (HA) extracted from 'A' horizon in Colombian high Andean soils dedicated to three uses: primary forest, croplands and pastures. The AH were obtained by sequential extraction of humified organic matter (HOM) with tetraborate, pyrophosphate and sodium hydroxide (0.1N) solutions; HA were purified through various analytical processes. Its chemical composition was determined by Py-GC/MS and THMA. Different pyrolysis products were classified in response to the chemical family to which they belong, prevailed fatty acids (FA) as the most abundant in all AH, while phenols, sterols, terpenes and S-compounds were found in lower abundance. There were differences in the percentages of relative abundance of the identified groups, showing that the land use change influences the physical, chemical, and biological properties of soils that are perceived at different levels of transformation, affecting the HA composition and its reactivity in the soil.

Keywords: Humic acids, high Andean soils, pyrolysis – gas chromatography – mass spectrometry, thermally assisted hydrolysis, methylation.

Composição molecular de ácidos húmicos avaliada mediante pirólise – cromatografia de gases – massas e hidrólise térmica assistida e metilação, em solos altoandinos em Colômbia

Resumo

Foi determinada a composição molecular de ácidos húmicos (AH), extraídos do horizonte 'A' dos solos altoandinos, Colômbia, surgido a três usos: floresta primária, cultivo e pastagem. Os AH se obtiveram através de extração sequencial da Matéria Orgânica Humificada (MOH) com soluções de tetraborato, pirofosfato e hidróxido de sódio (0,1N), e foram purificados por diversos processos analíticos. A sua composição química foi determinada por Py-GC/MS e THMA. Os diferentes produtos da pirólise foram classificados atendendo à família química à que pertencem, prevaleceram os ácidos gordurosos (FA) como o produto mais abundante em todos os AH, enquanto os fenóis, esteróis, S-compostos e terpenos foram encontrados em menor abundância. Surgiram diferenças nas percentagens da abundância relativa dos grupos identificados, mostrando que a mudança de uso de solo influencia nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo podendo ser perceptíveis diferentes graus de transformação, que afetam a composição dos AH e sua reatividade no solo.

Palavras-chave: ácidos húmicos, solos altoandinos, pirólise-cromatografia de gases-espectrometria de massas e hidrólise térmica assistida, metilação.

Introducción

Las SUSTANCIAS HÚMICAS (SH) cumplen un papel fundamental en la fertilidad y calidad del suelo, ejerciendo influencia sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo. Son moléculas heterogéneas de peso molecular elevado, con diferentes tipos de grupos funcionales, producto de la transformación bioquímica de materiales orgánicos que han sufrido procesos de descomposición, síntesis microbial, reacciones de polimerización y condensación (1). Los microorganismos sintetizan una variedad de materiales incluyendo polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, carotenoides, lípidos, etc., la mayoría de ellos son fácilmente metabolizados, a causa de muerte y autólisis, y entran al ciclo del carbono, mientras los materiales refractarios escapan a la degradación y se acumulan en el suelo (2).

La estructura de las SH está influida por parámetros como el pH y la fuerza iónica, por lo que las condiciones ambientales podrían influir en el tamaño y forma de las SH. Según los principios de solubilidad en solventes acuosos, las SH se clasifican en huminas, ácidos fúlvicos y ácidos húmicos (3, 4); estos últimos, con mayor peso molecular, constituyen la fracción biológicamente más resistente, con una amplia gama de estructuras aromáticas condensadas, estructuras alifáticas y biopolímeros de carbono altamente funcionales, unidos por diferentes tipos de enlaces de hidrógeno, enlaces π , e interacciones hidrofóbicas que proporcionan estabilidad a los suelos y evitan la emisión de gases a la atmósfera, favoreciendo el almacenamiento de carbono. Así mismo, las SH contribuyen a la retención de agua e influyen en varios procesos bioquímicos y ambientales, participan en la regulación de las interacciones de metales incluyendo procesos de adsorción/desorción y, dependiendo de los parámetros geoquímicos, pueden actuar como barreras geoquímicas y contribuir a la migración no retardada de metales (5). Retienen otros contaminantes de tipo orgánico e inorgánico afectando su movilidad, biodisponibilidad, degradación y fitotoxicidad en los suelos, tienen alta capacidad de intercambio catiónico y son fuente de macro y micronutrientes (6).

La naturaleza y composición de las SH ha sido de gran interés para muchos científicos desde hace más de 200 años y se ha venido desarrollando la aplicación de técnicas analíticas, químicas y espectroscópicas, especialmente UV-visible, RMN e IRTF (3, 6-8). Sin embargo, estos métodos no permiten establecer relaciones entre su composición química a nivel biomolecular y la vegetación de origen. Por su parte, otros estudios han demostrado que la pirólisis analítica y la pirólisis combinada con metilación pueden proporcionar información valiosa para comprender la estructura química de macromoléculas

las complejas, permitiendo llegar a comprender la complejidad real de los AH (9-15).

Los suelos altoandinos contribuyen a la regulación de fuentes hídricas y al ciclo global del carbono por su capacidad para estabilizar grandes cantidades de carbono orgánico durante miles de años, formando complejos estables con iones Al y Fe, alófanos y arcillas; sin embargo, están sufriendo procesos de expansión de la frontera agrícola que alteran sus propiedades y afectan la composición de las SH. Dada la importancia de estos suelos, este trabajo tuvo como propósito investigar la composición química de sus AH y evaluar el efecto del cambio de uso de suelo, determinando la contribución de los principales precursores de la macromolécula húmica, mediante Py-GC/MS y THM una técnica degradativa de alta reproducibilidad, que es capaz de romper enlaces tipo éster, éter y distintas uniones C-C.

Materiales y métodos

Descripción de la zona y suelos de estudio

La investigación se desarrolló en la microcuenca Santa Teresa, cuenca andina de alta montaña del río Las Piedras, Colombia, localizada entre las coordenadas 2° 26' 17.73" N y 76° 24' 17.32" W, con clima frío húmedo (temperatura media anual de 10.4°C y precipitaciones medias anuales entre 1050 a 1200 mm). Los suelos pertenecen a ecosistemas altoandinos en alturas comprendidas entre 2850-3238 msnm, clasificados como Andisoles, *Typic Hapludands* (16).

Diseño experimental y muestreo

Las unidades experimentales se seleccionaron considerando el uso de suelo, con sistemas de bosque primario, cultivo de papa y praderas. Teniendo en cuenta el área total dedicada a cada uso y resultados previos de carbono orgánico se aplicó la fórmula de Pearson (17) para la delimitación del área de muestreo de suelos en secuestro de carbono, obteniéndose: 3 unidades experimentales (parcelas) para bosque primario, 2 para pasturas y 1 para cultivo de papa, dando como resultado un diseño experimental aleatorio estratificado con seis parcelas. Cada parcela se delimitó por una cuadrícula de 400 m² tomando cada 5 m submuestras en el horizonte 'A', correspondiente a una profundidad de 20 cm en cultivo de papa y bosques primarios y a 10 cm en pastura, georreferenciadas

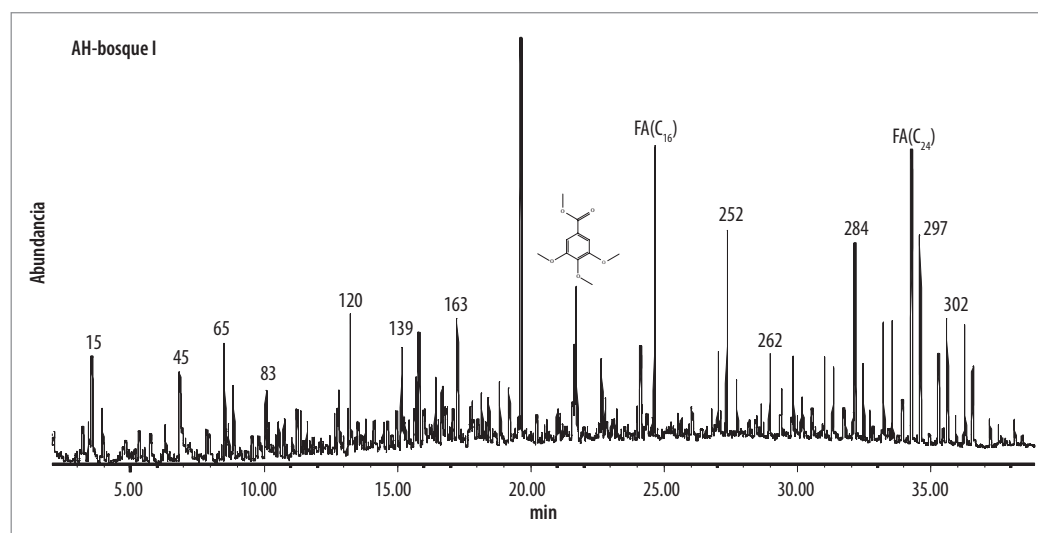


Figura 1. Cromatograma de gases de los pirolisatos de AH-bosque I liberados bajo THM.

usando GPS Garmin 60CS™. Los AH se obtuvieron a partir de las muestras compuestas formadas con 25 submuestras de cada parcela identificados así: AH-bosque I, AH-bosque II, AH-bosque III, AH-pastura II, AH-pastura III y AH-cultivo.

El tipo de vegetación predominante en los bosques es motilón (*Freziera canescens*) y en menor proporción encenillo (*Weinmannia tomentosa*) y la quina (*Cinchona pubescens*). La variedad de pastos predominante es el kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Los bosques y pasturas tienen un tiempo de permanencia de aproximadamente 15 años. El suelo dedicado a cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) es reciente (un año). El área agrícola es poco tecnificada, con labranza conservacionista y gran parte de ésta es de subsistencia. Las actividades pecuarias se realizan en pastos para ganadería extensiva con labranza cero.

Extracción y purificación de los ácidos húmicos

Para la extracción de las SH del suelo se utilizaron los protocolos descritos por Mosquera *et al.*, (18, 19). El fraccionamiento de MOS en materia orgánica humificada (MOH) y materia orgánica fresca (MOF) se realizó, mediante el método granulométrico de tamizaje en húmedo, disociando previamente en agua, por tratamiento mecánico los agregados normalmente estables del suelo. Así, se separó la fracción menor de 53µm, correspondiente a la MOH, utilizando un tamizador automático (Retsch As200®). Las fracciones AH, AF y huminas, se separaron mediante extracción secuencial de la MOH con soluciones básicas modificando la concentración de tetraborato, pirofosfato (0,1N) y la velocidad de centrifugación a 16.508 x g durante 20 minutos, usando una ultracentrífuga refrigerada Sorvall RC-5B®. Los AH se purificaron siguiendo el mismo protocolo y se liofilizaron en un equipo Labconco, modelo FreeZone 4.5® para su posterior caracterización (10).

Caracterización química de los ácidos húmicos mediante Py-GC/MS y THM

El análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases HP-6869N® acoplado a un detector selectivo de masas HP-5973 Network® (Hewlett-Packard, Abundale, PA, EUA). La temperatura del inyector fue de 250°C. La pirólisis (Py) de las muestras se realizó a 600°C durante 5 s. Se empleó un pirolizador precalibrado de espiral de Pt (CDS Pyroprobe®). Tanto la cámara de pirólisis, como el inyector cromatográfico, se mantuvieron a 250°C. La separación cromatográfica fue realizada en una columna capilar de sílice fundida HP-5MS (30 m x 250 mm x 0.25 mm nominal). Siguiendo las pautas establecidas por Buurman (9), las condiciones cromatográficas (GC) fueron las siguientes: temperatura inicial de 40°C mantenida durante 1 min con una rampa de 7°C/min hasta 300°C durante 15 min. La inyección de las muestras se efectuó en modo *split* con una relación 1:40. Como gas portador se utilizó He a una presión de 67,5 kPa en el inyector y con una velocidad de flujo constante de 1,5 mL/min.

Como técnica de ionización se utilizó el impacto electrónico; las condiciones de trabajo del espectrómetro de masas fueron las siguientes: temperatura de la fuente 230°C, energía electrónica 70eV y velocidad de barrido del espectrómetro de masas de 0.5 s/scan en el intervalo m/z 20-800. La THM (hidrólisis térmica asistida y metilación) combina la degradación de compuestos de alto peso molecular y la metilación de los productos obtenidos. A las muestras se adiciona una gota de solución de hidróxido de tetrametilamonio (TMAH) 25%, para introducir en el pirolizador. Se opera con un software Agilent Chemstation G1701CA MSD® para la integración de picos y evaluación de espectros de masas (MS). Los espectros se adquirieron en modo monitorización de iones total. La identificación de los compuestos se llevó a cabo por comparación con los espectros de patrones de las espectrotecas Wiley

Figura 2. Cromatogramas de gases de los pirolisatos de AH-bosque II y AH-bosque III bajo THM.

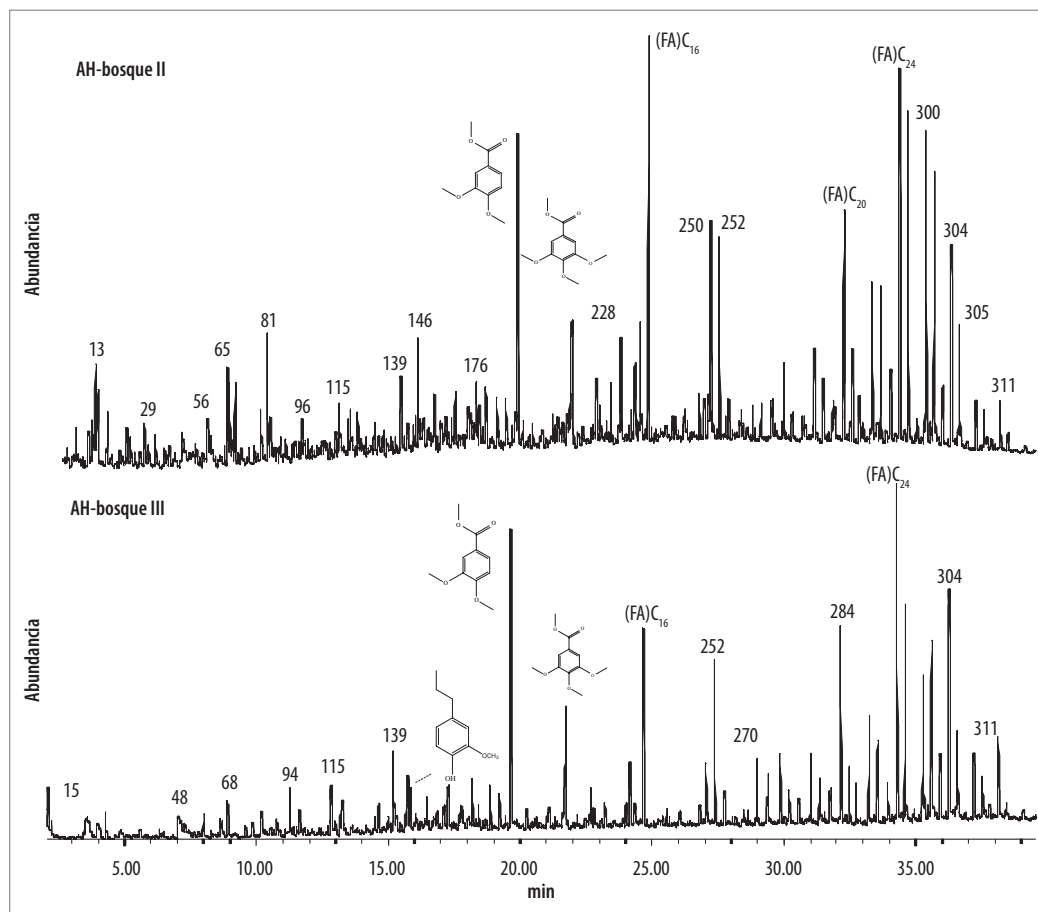


Tabla 1. Productos de pirólisis identificados a través de Py-GC/MS y THM en AH de suelos altoandinos.

Pico	t _R	Compuesto	m/z	Tipo
13	3,46	Metil éster del ácido metoxiacético	74	Ps
17	3,96	Derivado del ácido acético	59,88	Ps
25	4,74	Derivado de 2-furaldehído/2-ciclopentenona	53,82,96	Ps
29	5,33	Derivado de pirrol	53,95	N
36	5,88	N,N-dimetil acetamida	72,87	N
45	6,77	Derivado del ácido fosfórico	79,95,110	Otros
48	7,00/7,10	Ácido fosfórico trimetiléster	79,95,110	Otros
56	7,79	Fenol	94	Ph
62	8,26	Derivado de pirrol	80,109	N
65	8,59	fenol (2,6-dimetilfenol)	77,105,122	Ph
66	8,63	Ácido butenodioico, dimetiléster	55,85,113	Al
68	9,05	Ácido butanodioico dimetiléster	55,87,115	Al
81	10,09	Metoxifenol	109,124	Ar
83	10,14	Pirrolidinodiona-1-metil	56,113	N
88	10,77	Derivado del fenol	74,108,139	Ar
94	11,33	Benceno, 1,2-dimetoxi	123,138	Ar
96	11,39	Benceno-1-etil-4-metoxi	119,134	Ar
115	12,83	Furanona	127,142	Ps
120	13,25	Hexanodioico, dimetil éster	59,101,114,143	FA
139	15,17	Prolina?/piperidin-1-metil ciclohexanol?	98	N
145	15,75	1,2,4-trimetoxibenceno	125, 153, 168	Ar
146	15,83	4-propil-guaiacol	135,166	Lg
163	17,25	Pirimidinodiona, trimetil	68,154	N
164	17,36	Dimetil éster del ácido bencenodicarboxílico	77,163,194	Ar
176	18,07	Bencenodicarboxílico	163,194	Ar
202	21,09	2,3,4-trimetoxiacetofenona	195,21	Ar
211	21,74	3,4,5-trimetoxi-metil éster del ácido benzoico	74,125,155,195,211,226	Ar
228	23,62	Derivado del ácido decanodioico	55, 98,143,185	FA
231	24,14	Ácido 2-propenoico-dimetoxifenil, metil éster	191,222	Otros
250	27,04	Metil éster del ácido x-octadecenoico	55,69,83,97,110,180,222,264,296	FA
252	27,37	Metil éster del ácido octadecanoico	55,74,87,97,143,199,255,298	FA
262	28,98	Ácido graso	55,74,84,98,112,241,283	FA
268	29,86	Metil éster del ácido 10-metil nonadecanoico/eicosanoico	55,74,87,143,283,326	HC
270	30,18	Ácido graso	55,74,98	FA
278	31,35	Dimetil éster del ácido octadecanodioico	55,74	FA
284	32,14	Metil éster del ácido docosanoico	55,74,87,143,159,311,354	FA
291	33,23	Metil éster del ácido tricosanoico	55,74,8,325,368	FA

Pico	t_R	Compuesto	m/z	Tipo
296	34,28	Metil éster del ácido tetracosanoico	55,74,87,111,143,339,382	FA
297	34,6	Metil éster del ácido 13-docosenoico	55,74,87,97,111,143,320,352	FA
300	35,29	Metil éster del ácido pentacosanoico	55,74,87,353,396	FA
302	35,61	Dimetil éster del ácido docosanodioico	55,74,87,98,112,293,325,367	FA
304	36,27	Metil éster del ácido hexacosanoico	55,74,87,97,143,199, 311,367,410	FA
305	36,57	Metil éster del ácido 15-tetracosenoico	55,74,87,98,143,253,348,380	FA

t_R : Tiempo de retención; m/z: relación masa-carga.

y NIST, mediante la interpretación de las fragmentaciones másicas obtenidas para cada pico cromatográfico y según datos publicados en la bibliografía consultada (9, 20). Se estimó la abundancia relativa de los componentes identificados en los AH, agrupando los diferentes compuestos según el grupo químico al que pertenecen (compuestos aromáticos, ácidos grasos y demás) y calculando el porcentaje de su área cromatográfica con respecto al área total de todos los picos identificados.

Resultados y discusión

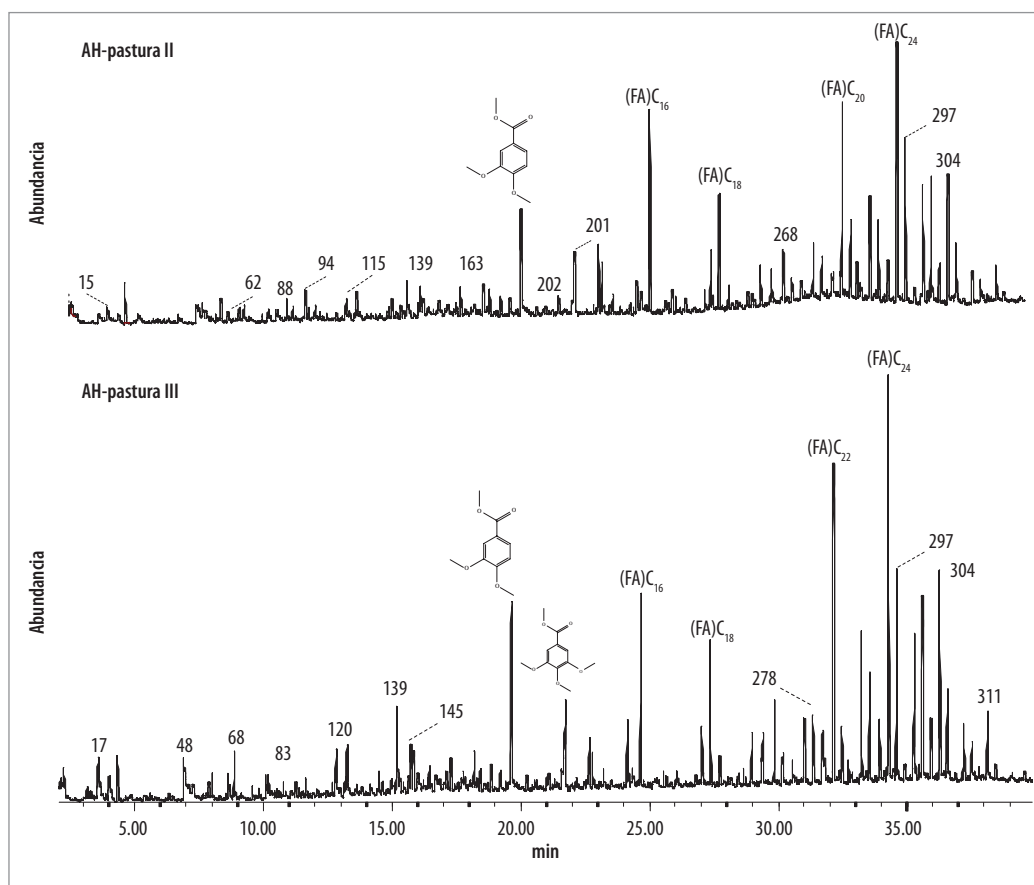
Pirólisis - GC/MS y THM

El análisis de ácidos húmicos mediante Py-GC/MS más hidrólisis térmicamente asistida y metilación (THM) reveló en los cromatogramas

de AH (Figuras 1 a 4) la presencia de una variedad de productos liberados (pirolisatos), que fueron etiquetados con número. Los cromatogramas son comparables en compuestos identificados, con variaciones en intensidad de los picos. Se identificaron 252 compuestos, algunos de los cuales se presentan en la Tabla 1; según la familia a la que pertenecen o su precursor, se agruparon en: compuestos aromáticos y poliaromáticos (Ar y PAR), ácidos grasos (FA), terpenos (Tr), esteroides (St), hidrocarburos (HC), hidrocarburos insaturados (HCins), otros hidrocarburos (Al), fenoles (Ph), compuestos derivados de polisacáridos (Ps), ligninas (Lg), compuestos de nitrógeno (N), compuestos de azufre (S) y derivados del ácido fosfórico.

La distribución de abundancia relativa de los grupos de compuestos identificados en los AH (Figura 5), revela que la composición de los AH procedentes de suelos con diferentes usos, está dominada por ácidos grasos (FA) y compuestos aromáticos (Ar y PAR). La abundancia de FA da indicios de la contribución microbiana (específicamente de Basidiomycetes) en la formación de AH: los FA son sintetizados por di-

Figura 3. Cromatogramas de gases de los pirolisatos de AH-pastura II y AH-pastura III bajo THM.



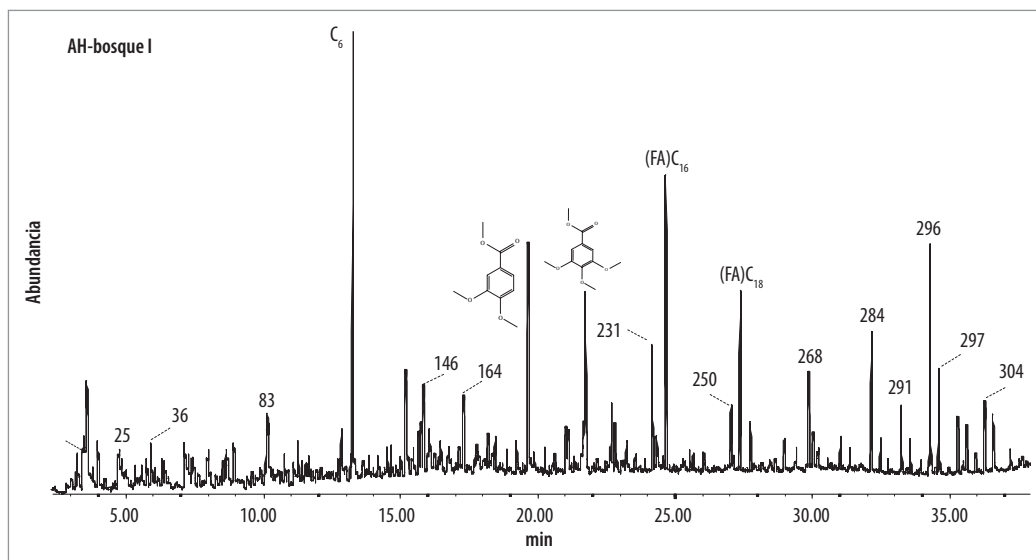


Figura 4. Cromatograma de gases de los pirolisatos obtenidos mediante THM de AH-cultivo.

chos hongos en el proceso de neosíntesis y, posteriormente, por muerte y autólisis, pasan a formar parte de los AH. La fuerte acidez y las bajas temperaturas en estos suelos favoreció la actividad de hongos y generó FA con poca ramificación. Algunos polisacáridos, como los furanos 2-furaldehído y 5-metil-furaldehído, hallados en los productos de pirólisis ratifican la presencia de biomasa fungal en los AH (4). Numerosos microorganismos telúricos, entre ellos *Aspergillus* y *Penicillium*, pueden haber contribuido al origen de los lípidos en los componentes alifáticos de la macromolécula húmica, importantes para la estabilidad estructural y flexibilidad conformacional de los AH (21). Lehtonen, Hanninen y Ketola (22) demostraron que se producen en huminas del suelo macromoléculas biogénicas alifáticas de origen vegetal y polímeros microbianos alifáticos altamente resistentes. Estos hallazgos apoyan fuertemente la sugerencia de que biolípidos, macromoléculas altamente alifáticas, representan sustratos potenciales para producción intramolecular de n-alcano dentro de la estructura del AH.

Ácidos grasos. En todos los AH se encontraron FA de C_{12} – C_{29} , especialmente FA de cadena par, como el ácido tetracosanoico (o lignóceroico) ($C_{24:0}$) con mayor porcentaje de abundancia en AH de bosques y pasturas, el ácido hexadecanoico (palmítico) ($C_{16:0}$) abundante en AH-cultivo. Además, se identificaron el ácido 13-docosenoico (erúxico) ($C_{22:1}$), el ácido mono y dicarboxílico (C_{22}), el ácido pentacosanoico ($C_{25:0}$) y el ácido hexacosanoico ($C_{26:0}$). La baja abundancia en ácidos grasos de cadenas impares y ramificadas puede deberse a una escasa producción de propionato en el proceso de neosíntesis, lo que sugiere reducida actividad bacteriana. La abundancia relativa de los FA fue superior en los AH-bosque III, AH-pastura II y AH-pastura III.

Aromáticos y poliaromáticos. Se identificaron fundamentalmente derivados de benceno, tolueno y fenol. El benceno generalmente se atribuye a polifenoles y el tolueno es un producto de pirólisis de otros fenoles o proteínas; sin embargo, ambos pueden derivar de carbón recalcitrante (9). En el AH-cultivo predomina el 3,4,5-trimetoxi metil es-

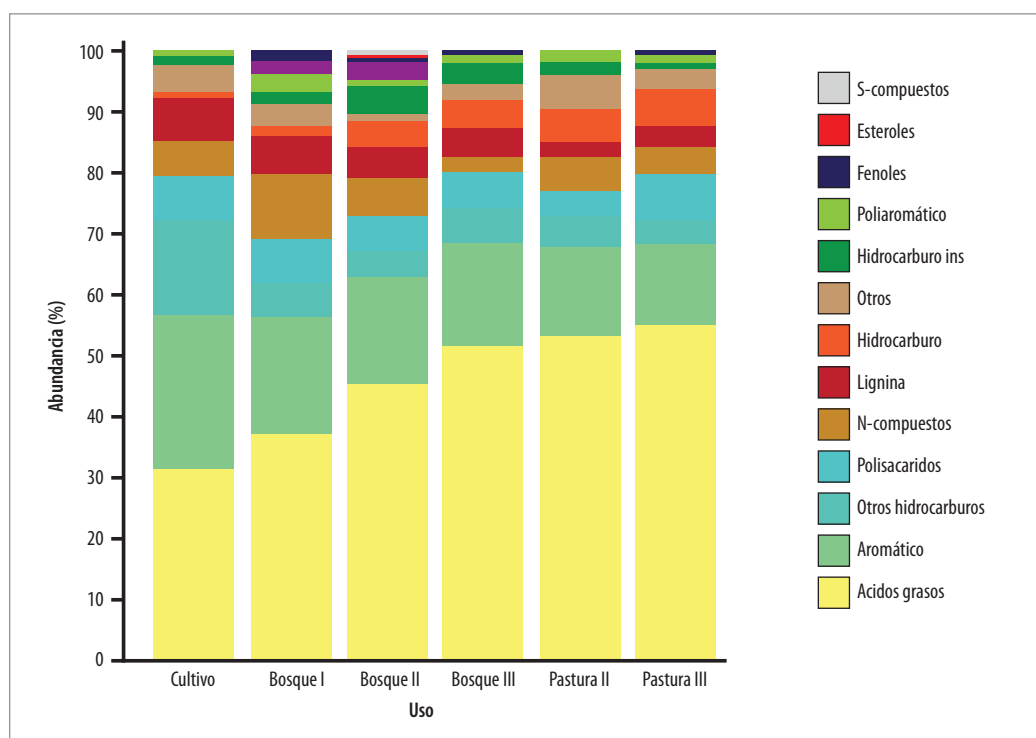


Figura 5. Abundancia relativa (%) de la composición molecular de AH de suelos con diferente uso.

ter del ácido benzoico, siendo dos veces superior al de los otros AH, lo que indica una menor oxidación de grupos metoxilos en las cadenas laterales. Los AH-bosques presentaron mayor abundancia relativa de compuestos aromáticos con respecto a los AH-pasturas, demostrando la influencia del cambio de uso en la formación de este tipo de compuestos. Los productos poliaromáticos identificados en las muestras de AH corresponden a densas estructuras aromáticas, especialmente derivados del naftaleno.

Lignina. Se encontraron bajos contenidos (2-7%) de productos de pirólisis derivados de lignina, porque en estos suelos fuertemente ácidos predominan los hongos que utilizan este compuesto como fuente de energía; ello concuerda con los resultados marcadamente bajos de pirólisis de andisoles encontrados por Naafs (4) quien sugiere que la lignina es degradada rápidamente en suelos volcánicos. El AH-cultivo supera en abundancia de lignina a los AH-bosques, debido al material vegetal utilizado en la preparación del abono orgánico aplicado a esta parcela. Los AH-pasturas presentan los contenidos más bajos, ratificando que en suelos cubiertos de tejido leñoso hay más contenido de lignina. La distribución de patrones estuvo marcada por 4-propilguayacol, metilguayacol, 4-(1-propenil) guayacol, 4-vinilguayacol producto del ácido ferúlico, siringoles como vinil-siringol y derivados del ácido siringico, prevaleciendo el 4-propilguayacol en los AH de los diferentes usos de suelo. La disminución de los siringoles respecto de los guayacoles confirma la posible demetilación y seguida dehidroxilación y/o demetoxilación de la lignina lo cual es una característica común en suelos (20).

N-compuestos. En los AH se identificaron compuestos de nitrógeno, principalmente derivados del pirrol, la piridina y algunos derivados del indol. Estos productos resultan de la contribución de aminoácidos presentes en polipeptidos y proteínas de los AH o en complejos proteína-quitina de las fuentes de AH. Los pirroles son productos de pirólisis de la prolina, la hidroxiprolina y la glutamina, las piridinas de aminoazúcares y alanina, los indoles de triptófano y nitrilos aromáticos de fenilalanina (20). En AH-cultivo predominan productos derivados del pirrol, de menor peso molecular que los encontrados en AH de los otros usos de suelo, porque aparecen a tiempos de retención (t_R) más bajos, presentando mayor abundancia de 1-metil-pirrol, N,N-dimetilacetamida y metil propil succinimida; con ello se demuestra mayor grado de transformación de estos AH por el efecto de la aplicación de abonos orgánicos maduros y el mejoramiento de las condiciones físicas y químicas del suelo que promueven una mayor actividad microbiana. En los AH de bosques y pasturas los hay abundancia de prolina. Se identificó la base nitrogenada pirimidinodiona en AH-pasturas y AH-bosque I, la cual se halla asociada con menor grado de transformación.

Hidrocarburos (alcanos/alquenos). Se determinó la abundancia relativa de compuestos de cadena larga C_{11} - C_{29} predominando los hidrocarburos saturados. Se resalta el menor contenido de hidrocarburos de cadena larga en AH-cultivo y mayor contenido en AH-bosque II y AH-bosque III. Las relaciones aromaticidad/alifaticidad de los AH-cultivo y AH-bosque I son superiores, lo que confirma que el AH-cultivo posee una estructura menos alifática y más transformada que los otros sistemas.

Polisacáridos. El contenido de polisacáridos es bajo (3.88-7.32%), tratándose en todos los casos de fragmentos muy pequeños porque su descomposición en el suelo es un proceso rápido; la presencia en los AH se puede considerar de origen microbiano (23), indicando que una parte significativa de los polisacáridos se forma *in situ* de la mesofauna y biomasa microbiana (20). Además, es probable que exista estabilización de polisacáridos por los alófanos presentes en el suelo, como se detalla en un estudio realizado por Parfitt (24).

Fenol. El fenol es un indicador de la degradación de la MOS por su asociación con las proteínas, aunque la pirólisis de lignina y celulosa también genera fragmentos fenólicos (11). El contenido de fenoles en AH es muy bajo y no fue detectado en AH-bosque III, AH-pastura II ni AH-pastura III.

Conclusión

La composición molecular evidencia que los AH procedentes de diferentes usos del suelo, presentan los mismos grupos de moléculas, con diferencias en los porcentajes de abundancia relativa y dominio de los grupos identificados. AH-cultivo presentó inferior cantidad de FA, bajos contenidos de N-compuestos y notable abundancia de compuestos aromáticos, lo que indica que en estos suelos ocurren procesos de transformación *in situ* más avanzados por mejoramiento en sus condiciones físicas y químicas que redundan en superior calidad de los AH. Los AH-bosques presentaron mayor abundancia relativa de compuestos aromáticos con respecto a los AH-pasturas.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la VRI de la Universidad del Cauca y a la Universidad de Granada (España) por su apoyo económico a este trabajo enmarcado dentro de un proyecto de investigación. Al Instituto de Restauración del Patrimonio de la Universidad Politécnica de Valencia (España) por el acompañamiento técnico.

Referencias

1. Stevenson, F.J. Humus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions. 2nd ed. New York. Wiley Interscience. 1994.
2. Piccolo, A. Humic Substances in Terrestrial Ecosystems Amsterdam, Elsevier Science B.V. 1996.
3. Ussiri, D.A.N.; Johnson, C.E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ^{13}C NMR spectroscopy and chemical methods. *Geoderma*. 2003. **111**: 123-149.
4. Naafs, D. F. W. What are humic substances? A molecular approach to the study of organic matter in acid soils. The Netherlands. Utrecht University. 2004.
5. Ghabbour, E.; Davies, G. Humic substances Nature, s Most Versatile Materials. New York. Taylor and Francis, Inc. pp 1-5. 2005.
6. Senesi, N.; Dorazio, V.; Ricca, G. Humic acids in the first generation of EUROSOILS. *Geoderma*. 2003. **116**: 325-344.
7. Conte, P.; Piccolo, A.; Van lagen, B.; Buurman, P.; De Jager, P. A. Quantitative aspects of solid-state ^{13}C -NMR spectra of humic substances from soils of volcanic systems. *Geoderma*. 1997. **80**: 327-338.
8. Kang, S.; Amarasiriwardena, D.; Veneman, P.; Xing, B. Characterization of ten sequentially extracted humic acids and a humin from a soil in western massachusetts. *Soil Sci*. 2003. **168**: 880-887.
9. Buurman, P.; Nierop, K.G.J.; Kaal, J.; Senesi, N.. Analytical pyrolysis and thermally assisted hydrolysis and methylation of EUROSOIL humic acid samples — A key to their source. *Geoderma*. 2009. **150**: 10-22.
10. Nierop, K.; Van Langen, B.; Buurman, P. Composition of plant tissues and soil organic matter in the first stages of a vegetation succession. *Geoderma*. 2001. **100**: 1-24.
11. Rodríguez, B.; España, M.; Cabrera de Bisbal, E. Propiedades químico-estructurales de la materia orgánica del suelo en un agro sistema de los llanos centrales venezolanos bajo diferentes prácticas de manejo. *Interciencia*. 2004. **29**: 461-467.
12. De la rosa, J. M.; González, P. J. A.; González V. R.; Knicker, H.; López, C.E.; Manning, D. A. C.; González, V.F.J.. Use of pyrolysis/GC-MS combined with thermal analysis to monitor C and N changes in soil organic matter from a Mediterranean fire affected forest. *Catena*. 2008. **74**: 293-303.

13. Knicker, H.; Gonzales, F.; Polvillo, O.; Gonzales, J.; Almendros, G.. Fire-induced transformation of C- and N- forms in different organic soil fractions from a Dystric Cambisol under a Mediterranean pine forest (*Pinus pinaster*). *Soil Biol Biochem.* 2005. **37**: 701-718.
14. Spaccini, R.; Piccolo, A. Molecular characteristics of humic acids extracted from compost at increasing maturity stages. *Soil Biol Biochem.* 2009. **41**: 1164-1172.
15. Vancampenhout, K.; Wouters, K.; De Vos, B.; Buurman, P.; Swennen, R.; Deckers, J. Differences in chemical composition of soil organic matter in natural ecosystems from different climatic regions – A pyrolysis–GC/MS study. *Soil Biol Biochem.* 2009. **41**: 568-579.
16. IGAC. Estudio General de Suelos y Zonificación de Tierras Departamento del Cauca Escala 1:100.000. Bogotá. 2009.
17. Pearson, T.W.S.; Brown S. Sourcebook for Land use, land-use change and forestry project. International Winrock. 2005. Disponible en: http://www.winrock.org/ecosystems/files/winrock-biocarbon_fund_sourcebook-compressed.pdf. [Consultado el 9 de octubre de 2011].
18. Mosquera, C.; Bravo, I.; Hansen, E. Comportamiento Estructural de los ácidos húmicos obtenidos de un suelo Andisol del Departamento del Cauca. *Revista Colombiana de Química.* 2007. **36**: 31-41.
19. Mosquera, C.; Bravo, I. Comportamiento de los ácidos húmicos en medio básico. *Suelos Ecuatoriales.* 2006. **36**: 36-42.
20. Nierop, K.; Ven Bergen, P.; Buurman, P.; Van Lagen, B. NaOH and Na₄P₂O₇ extractable organic matter in two allophanic volcanic ash soils of the Azores Islands—a pyrolysis GC/MS study. *Geoderma.* 2005. **127**: 36-51.
21. Carrillo, L. Actividad microbiana. En: *Microbiología Agrícola*. Salta: Universidad Nacional de Salta. pp.1-28. 2003.
22. Lehtonen, K.; Hänninen, K.; Ketola, M. Structurally bound lipids in peat humic acids. *Org Geochem.* 2001. **32**: 33–43.
23. Fassbender, H.W.; Bornemisza, E. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. 2ed. San José, Costa Rica. IICA. 1987.
24. Parfitt, R. L.; Yuan, G.; Theng, B. K. G. A ¹³C-NMR study of the interactions of soil organic matter with aluminium and allophane in podzols. *Eur J Soil Sci.* 1999. **50**: 695-700.

Article citation:

Martínez, C.X.; Bravo, I.; J. Martín, F. Composición molecular de ácidos húmicos evaluada mediante pirólisis – cromatografía de gases – espectrometría de masas e hidrólisis térmica asistida y metilación en suelos altoandinos de Colombia. *Rev Colomb Quim.* 2013. **42**(1): 22-29.