

## Evaluación del proceso de coagulación de los ácidos húmicos (AHs) en presencia de $\text{Fe}^{3+}$

Pérez Silva Irma, Páez Hernández María Elena, Nieto Velázquez Silvia\*

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química. Carretera Pachuca – Tulancingo km. 4.5, colonia carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo. C.P. 42184. México.

\* Autor para correspondencia: : nieto@uaeh.edu.mx.

**Recibido:** 03/  
junio/2018

**Aceptado:**  
04/agosto/2018

**Palabras clave:**  
Ácido-húmicos,  
coagulación,  
potencial zeta

**Keywords:**  
Humic-acid,  
coagulation,  
zeta potential

### RESUMEN

En esta investigación se realizó la extracción de un ácido húmico (AHs) de un suelo de Atotonilco (estado de Hidalgo), empleando  $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  e NaOH como agentes extractantes. El análisis fisicoquímico del ácido húmico extraído (AH-A), utilizando diferentes métodos y técnicas analíticas mostro que sus características alifáticas y poliácidas fueron similares comparadas con el ácido húmico comercial (AH-CH). Con respecto a su capacidad de coagulación con iones de  $\text{Fe}^{3+}$ , evaluada por medio de lecturas de potencial zeta se evidenció que existe una rápida interacción de los AHs con este metal. Incrementa su coagulación al aumentar la concentración del metal y a un pH mayor de 4, debido a la desprotonación de los grupos carboxílicos (-COOH) principalmente, que bajo estas condiciones pueden coordinarse, reduciendo la carga neta negativa y permitiendo así que tales complejos se aproximen entre sí e interactúen a través de puentes de hidrógeno. Con estos resultados se pudo demostrar la afinidad de los AHs con  $\text{Fe}^{3+}$  y su importancia en el transporte de nutrientes en sistemas ambientales.

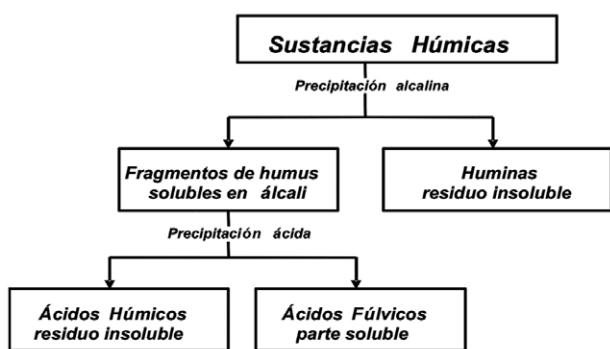
### ABSTRACT

In this research the extraction of a humic acid (HAs) from a soil of Atotonilco (Hidalgo state) were performed using  $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  and NaOH as extracting agents. Physicochemical analysis of extracted humic acid (HA-A), were obtained using different analytical methods and techniques showed that their polyacidic and aliphatic characteristics was similar compared with the commercial humic acid (HA-CH). In regard to its ability to coagulation with  $\text{Fe}^{3+}$  ions, evaluated through zeta potential values, it was shown that there is a rapid interaction of the HAs with this metal. Coagulation increases at higher metal concentration and an pH higher than 4, because of the greater deprotonation of carboxylic groups (-COOH) principally, that can coordinate under these conditions, reducing the net negative charge and enabling such complexes approach one another and interact through hydrogen bonding. It could be demonstrated the affinity of AHs with  $\text{Fe}^{3+}$  and their importance in nutrient transport in environmental systems.

## Introducción

La materia orgánica (MO) del suelo es una acumulación de plantas muertas, parcialmente descompuestas y residuos de animales y vegetales, lo que se conoce como biomasa vegetal y animal (Bohn et al., 1993). La MO se encuentra en un estado de descomposición activo estando sujeta al ataque continuo de los microorganismos del suelo. Por lo que la permanencia de este material es transitoria y está siendo renovada continuamente (Ortega, 1981), a medida que aumenta la cantidad de residuos orgánicos agregados a los suelos hay un aumento en el contenido de MO, sin embargo esta cantidad y composición va a depender de diferentes parámetros climatológicos de la zona (Aguilera Herrero, 1989).

En la MO encontramos a las Sustancias Húmicas (SHs) también conocidas con el nombre de humus. Las SHs presentan una estructura extremadamente compleja donde posiblemente no hay dos macromoléculas exactamente iguales. En general los contenidos de SHs, según el tipo de suelo, varían entre 33% y 75% del total de MO, aunque este porcentaje difiere según el tipo de suelo y la profundidad en el perfil del mismo (Lizcano, 2011). Las SHs Pueden ser clasificadas en términos de sus propiedades solubles (Figura 1), es decir en ácidos húmicos (AHs) que son extraídos de los suelos con soluciones alcalinas y convertidos en precipitados insolubles en medio ácido; en ácidos fúlvicos (AFs) solubles tanto en soluciones alcalinas como ácidas (solubles en todo el intervalo del pH) y en huminas que es la MO en los residuos alcalinos (Almendros, 2008).



**Figura 1.** Clasificación de las SHs con base en su solubilidad en medios alcalinos y/o ácidos.

Sin embargo en este trabajo de investigación nos enfocamos a la evaluación de un proceso de coagulación de los AHs por ser los componentes principales y más abundantes de la MO del suelo, por presentar mayor estabilidad en su estructura química comparados con los AFs (Figura 2) y por poseer una gran cantidad y variedad de grupos funcionales característicos,

principalmente hidróxidos y carboxílicos (-OH y -COOH) (Stevenson, 1994; Plaza et al., 2006). Es debido que al gran número y variedad de grupos funcionales los AHs pueden interactuar con todo tipo de iones o moléculas orgánicas, y de esta forma movilizar contaminantes orgánicos y permitir el transporte de iones metálicos.



**Figura 2.** Clasificación de las SHs con base en su estabilidad química.

Se trabajó con dos AHs (comercial y extraído en el laboratorio de una muestra de suelo), caracterizados por diferentes técnicas y métodos analíticos (Nieto, 2010), con la finalidad de correlacionar y comparar los resultados que se han obtenido al realizar la evaluación del proceso de coagulación que presentan los ácidos (AH-CH y AH-A) a una concentración de 50 mg/l en presencia de  $Fe^{3+}$  a diferentes concentraciones (1, 2 y 3 mM) e intervalos de pH (5 y 7), para contribuir a la comprensión de los mecanismos de movilidad del metal en los sistemas ambientales, como suelo y agua (Kloster, 2013; Watson et al., 2016).

## Metodología

### Obtención y preparación de la muestra de suelo

Se trabajó con un AH obtenido del suelo de Atotonilco, Hidalgo (AH-A), siendo un lugar no contaminado y boscoso con una constante degradación y transformación de la biomasa vegetal y animal. El muestreo se realizó escarbando de 15 a 20 cm de profundidad (horizonte A), posteriormente la muestra se secó a una temperatura de 60 °C y se tamizó hasta obtener un tamaño de partícula de 1.0 mm, finalmente se colocó en un recipiente completamente limpio y hermético. No obstante, para comparar y correlacionar resultados también se trabajó con un AH comercial CHEMAPEX (AH-CH) obtenido del carbón y con una alta pureza (11.7 % de cenizas) comparado con AHs extraídos en el laboratorio.

### Método de extracción y purificación del AH-A

Para la extracción del AH se pesaron 15 g de suelo y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer con capacidad de 250 mL. Posteriormente, se agregaron 120 mL de una solución recién preparada de  $Na_2P_2O_7 \cdot 10H_2O$  e NaOH, (11.15 g de  $Na_2P_2O_7 \cdot 10H_2O$  y 1 g de NaOH en 250 mL de solución) a  $pH \approx 13$ ; el matraz se cerró perfectamente

con una septa para evitar la entrada de CO<sub>2</sub> y se mantuvo en agitación durante 30 min, se dejó reposar aproximadamente 24 h. Finalmente se filtró utilizando papel filtro whatman No. 42. Al filtrado obtenido se le añadió aproximadamente 2.5 mL de HCl concentrado, se agitó cuidadosamente y se dejó reposar hasta observar la precipitación del AH. La mezcla se centrifugó por 10 min a 2300 rpm, desechando el sobrenadante y así continuando la operación hasta tener una parte mínima de líquido, prosiguiendo con el filtrado a vacío utilizando membranas Millipore de tipo GVHP 0.22 µm. El sólido se secó en la estufa a una temperatura de 60°C durante 2 h aproximadamente; se retiró y se colocó en el desecador alrededor de 30 min y finalmente se pesó (Kononova, 1982; Carpio, 2017). Las muestras obtenidas se preservaron (recipientes color ámbar) para su posterior caracterización con diferentes métodos y técnicas analíticas.

#### **Caracterización de los AHs (comercial: AH-CH y extraído: AH-A)**

##### **Análisis elemental**

Para la determinación de la composición elemental de las muestras sólidas de AHs, se utilizó un Analizador Elemental Serie II CHNS/O 2400 Perkin Elmer, que permitió determinar los porcentajes totales de los componentes elementales (%C, %H, %N y por diferencia %O) y las relaciones: H/C y O/C con base en la relación de sus átomos (Tipping, 2002).

##### **Determinación del contenido de cenizas**

Se pesó 0.1 g de cada uno de los AHs en los crisoles (por triplicado), se dejaron en la mufla a 900 °C durante 6 h; Luego de este tiempo los crisoles se colocaron en un desecador y se pesaron.

##### **Espectroscopia UV/Vis**

Las propiedades espectroscópicas como la absorptividad molar ( $\epsilon_{280}$ ), porcentaje de aromaticidad, peso molecular promedio y el grado de humificación de los AHs. Se determinaron en un equipo Perkin Elmer modelo Lambda 40, en el cual se obtuvieron los espectros de 200 a 700 nm con una solución de 10 ppm de AH, registrando las absorbancias a diferentes longitudes de onda (280, 465 y 665 nm). Se determinó el coeficiente de absorptividad molar ( $\epsilon_{280}$ ), a 280 nm utilizando la ecuación de Lambert-Beer:

$$\text{Absorbancia} = \epsilon c l \quad (1)$$

El Porcentaje de aromaticidad y el peso molecular promedio se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones correlacionadas con la absorptividad molar (Chin et al., 1994):

$$\text{Aromaticidad} = 0.05 \epsilon_{(280)} + 6.74 \quad (2)$$

$$\text{P.M.} = 3.99 \epsilon_{(280)} + 490 \quad (3)$$

Se calculó también la relación E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> (absorbancia de 465 nm dividida por la absorbancia de 665 nm), parámetro utilizado para correlacionar el grado de humificación.

##### **Determinación de la acidez total y cantidad de grupos carboxílicos e hidróxilos fenólicos**

La acidez total (grupos: -COOH y -OH) se determinó por el método de Ba(OH)<sub>2</sub> (barita cáustica) (Ritchie y Perdue, 2003; Plaza et al., 2006a). Se pesaron 50 mg de AH, se agregaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL (se realizó por triplicado y también un blanco), con 20 mL de Ba(OH)<sub>2</sub>.8H<sub>2</sub>O 0.2 N, favoreciendo condiciones anaerobias utilizando atmósfera de nitrógeno. Posteriormente la mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente; transcurrido el tiempo se filtró la suspensión lavando el residuo con agua destilada libre de CO<sub>2</sub> para titular de forma potenciométrica el filtrado con una solución 0.5 N de HCl hasta llegar a pH de 8.4. Para el cálculo se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{AT} = [(Vb - Vm) \times N \times 1000] / \text{mg}_{(\text{muestra})} \quad (4)$$

Para la determinación de grupos carboxílicos se utilizó el método de Ca(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>, para lo cual se pesaron 50 mg de AH, se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL (se realizó por triplicado y también un blanco), con 10 mL de Ca(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O 1 N y 40 mL de agua destilada libre de CO<sub>2</sub>; posteriormente la mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente y transcurrido el tiempo, se filtró la suspensión lavando el residuo con agua destilada libre de CO<sub>2</sub>. Finalmente se tituló el filtrado de forma potenciométrica con una solución 0.1 N de NaOH hasta llegar a pH de 9.8. Para el cálculo se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{meq g}^{-1} \text{COOH} = [(Vm - Vb) \times N \times 1000] / \text{mg}_{(\text{muestra})} \quad (5)$$

La cantidad de grupos hidroxilos fenólicos fue calculada por diferencia entre la acidez total y la acidez de los grupos carboxílicos.

### **Espectroscopia de IRTF**

Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Spectrum GX, preparando pastillas con 2.0 mg de muestra en 200 mg de KBr y utilizando el intervalo de número de onda comprendido de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **Proceso de coagulación de los AHs en presencia de $\text{Fe}^{3+}$**

#### **Preparación de soluciones madre**

Para llevar a cabo el proceso coagulación de los AHs (AH-CH y AH-A) al interactuar con  $\text{Fe}^{3+}$ , se inició por preparar las soluciones madre de 1000 mg/l de cada uno de los AHs, 100 mM de NaCl como electrolito soporte y 10 mM de la sal de  $\text{FeCl}_3$ .

#### **Proceso de coagulación**

Se prepararon cuatro soluciones a la primera solución se le agregó 50 mg/l de AH y 15 mM de NaCl como electrolito soporte, con las otras tres soluciones se le agregó la misma cantidad de húmico y electrolito soporte pero se evaluaron diferentes concentraciones de la sal del metal trivalente ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a 1, 2 y 3 mM ajustando todas las soluciones a un pH de 5, y posteriormente se realizó el mismo procedimiento descrito pero ahora ajustando las soluciones a pH de 7. Todas las soluciones se dejaron en reposo aproximadamente 16 h y se determinó el potencial Zeta ( $\zeta$ ) utilizando un equipo Malvern modelo Zetasizer nano series (Kloster, 2013a).

### **Resultados y discusión**

El método de extracción resultó ser un tratamiento mucho más rápido, económico y eficiente comparado con otros métodos (Kononova, 1982a), aunque no es recomendable para suelos muy mineralizados (Licón Sánchez, 2007).

#### **Caracterización de los AHs (AH-A y AH-CH)**

##### **Análisis elemental**

Con respecto a la relación H/C para los dos AHs, se observa que son de naturaleza aromática en diferentes grados, decreciendo en el siguiente orden: AH-CH > AH-A, ya que de acuerdo a la literatura valores  $\leq 1$  predomina el carácter aromático (Kononova, 1982b). Por otro lado, debido a que la relación O/C es superior a 0.5, indica que son AHs con un alto contenido de grupos carboxílicos y/o carbohidratos, siendo el AH-CH el que presenta un mayor contenido de estos grupos. Es importante mencionar

que las relaciones: H/C y O/C se ven afectadas por diversos factores (clima, topografía, biomasa, grado de humificación, entre otros) y por el método de extracción (Stevenson, 1994a) (Tabla 1).

#### **Determinación del contenido de cenizas**

El alto porcentaje en cenizas en los AHs (del cual no es posible liberarse ni volviendo a precipitar) señala la existencia de firmes uniones (posiblemente complejas) con arcillas o metales que sustituyen al hidrógeno en su estructura (Tabla 1).

#### **Espectroscopia UV/Vis**

A pesar que los espectros de los AHs caracterizados presentan la misma tendencia (Figura 3), existen pequeñas diferencias que arrojan diferentes valores en su respectivo cociente  $E_4/E_6$  (Tabla 1). Sin embargo, y de acuerdo a lo reportado en la literatura (Stevenson, 1994b), los AHs que se analizaron presentan un valor del cociente  $E_4/E_6 < 5$ , lo cual indica que son ácidos maduros o humificados (mayor carácter aromático y peso molecular), decreciendo en el siguiente orden: AH-CH > AH-A. Esto último coincide con el porcentaje de aromaticidad y el peso molecular promedio obtenidos mediante el coeficiente de absorptividad molar (Chin et al., 1994).

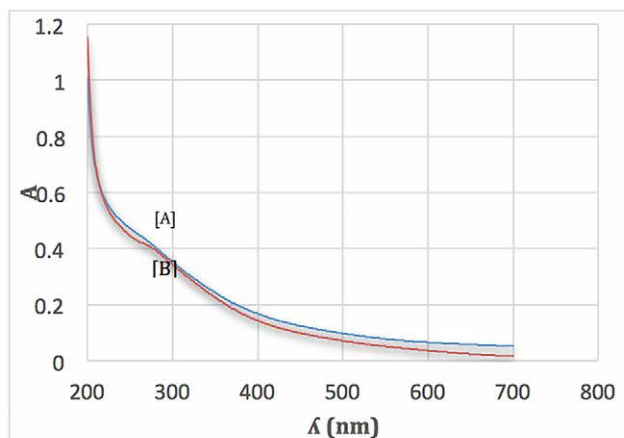


Figura 3. Espectros de absorción UV/Vis: [A] AH-CH y [B] AH-A, 10 mg/L, pH = 11.09, longitud de celda: 1 cm.

#### **Determinación de la acidez total y cantidad de grupos carboxílicos e hidroxilos fenólicos**

Para los AHs son característicos los grupos funcionales carboxílicos ( $-\text{COOH}$ ) e hidroxilos fenólicos ( $-\text{OH}$ ), cuyo hidrógeno es susceptible a las reacciones de sustitución (Ritchie y Perdue, 2003a; Plaza et al., 2006b). Debido a la presencia de estos grupos los AHs tienen propiedades

ácidas y la capacidad de intercambiar iones (mayor CIC). Los resultados del análisis se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas de los AHs en estudio.

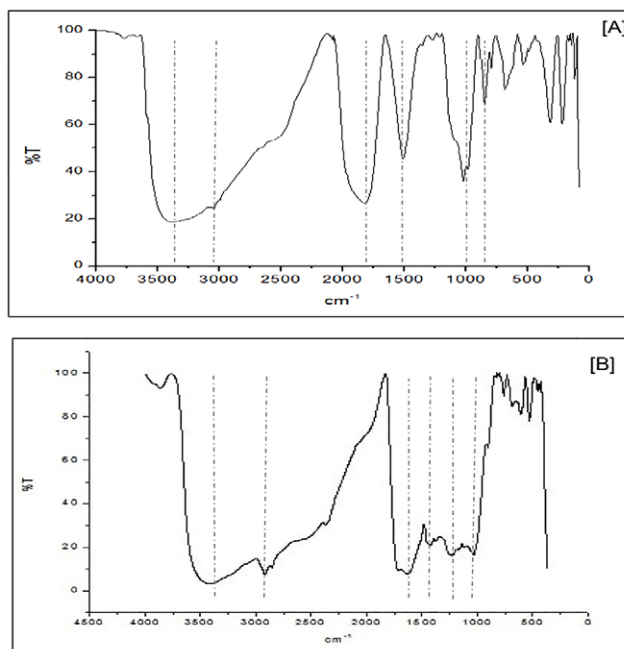
Parámetros	ÁCIDOS HÚMICOS	
	AH-CH	AH-A
H/C	0.95	1.05
O/C	1.39	0.68
C:H:N:O	66:63:1:92	19:20:1:13
%Cenizas	11.70 <sub>(1.00)</sub>	6.09 <sub>(1.34)</sub>
$\epsilon_{(280)}/(L \cdot (mol \text{ de CO})^{-1} \cdot cm^{-1})$	1 409.00	1 158.01
%Aromaticidad	77.17	64.64
P.M.	6 110.32	5 110.44
$E_4/E_6$	2.07	4.26
Acidez Total ( $meq \cdot g^{-1}$ )	8.00 <sub>(4.06)</sub>	10.55 <sub>(3.28)</sub>
COOH ( $meq \cdot g^{-1}$ )	3.33 <sub>(1.36)</sub>	4.58 <sub>(3.22)</sub>
OH ( $meq \cdot g^{-1}$ )	4.67 <sub>(2.71)</sub>	5.97 <sub>(6.24)</sub>

% DER entre paréntesis para un total de seis y tres análisis. Resultados que no reportan %DER  $\leq 1$ .

Del análisis de la Tabla 1 se observa que en la relación O/C, el AH-CH es el que posee mayor cantidad de grupos carboxílicos y/o carbohidratos, pero una menor acidez, lo cual se considera que una parte del oxígeno esté formando complejos con metales y/o arcillas, hecho que se refleja en su alto contenido de cenizas.

### Espectroscopia de IRTF

Los espectros de IRTF de los AHs (AH-CH y AH-A) revelaron la presencia de bandas de absorción muy similares, independientemente de su fuente u origen natural, aunque con pequeñas diferencias de intensidad y desplazamientos. Esto permite proponer la presencia de los mismos grupos funcionales principales y más abundantes del tipo -OH, -COOH, -C=O, de alcoholes, fenoles, ésteres, cetona o amidas, aunque en diferente proporción (Figura 4).



**Figura 4.** Espectro de IRTF: [A] AH-CH y [B] AH-A, analizados en pastilla: con 2.0 mg muestra en 200 mg de KBr.

De esta forma se puede concluir que en los dos AHs la aromaticidad, peso molecular y el grado de humificación decrece en el siguiente orden: AH-CH > AH-A, sin embargo en lo que respecta al grado de acidez decrece en el siguiente orden: AH-A > AH-CH tomado en cuenta todos los resultados obtenidos por AE, UV/Vis, titulaciones ácido/base e IRTF.

### Estudio del proceso de coagulación de los AHs en presencia de Fe<sup>3+</sup>

El efecto positivo sobre el  $\zeta$  (cuando el potencial se vuelve menos negativo) debido la presencia del metal (contra-ion), se explica por la reducción de la carga del AH que se unen a los grupos carboxílicos y/o fenólicos negativamente cargados. La magnitud de esta diferencia, puede relacionarse también con la afinidad entre la macromolécula y los iones metálicos, en este caso con el Fe<sup>3+</sup>, quien presenta una mayor interacción con los grupos carboxílicos (-COO<sup>-</sup>) tal y como lo marca la literatura (Kloster, 2013b). Así, es posible ver que los cambios en el valor del  $\zeta$  no sólo son el efecto del cambio en la fuerza iónica de la disolución y por tanto, de la compresión de la doble capa que rodea a la macromolécula, sino una medida de la atracción entre AHs y diferentes compuestos iónicos.



Debido a la mínima influencia que tiene la sal de Na<sup>+</sup> en el potencial zeta del AH, y con la finalidad de aumentar la conductividad eléctrica de la disolución, a los posteriores análisis se realizaron añadiendo una concentración 15 mM de NaCl como electrolito soporte. Así, se evaluó bajo estas condiciones el efecto del incremento de la concentración del Fe<sup>3+</sup> a 1, 2 y 3 mM, a valores de pH 5 y 7 (16 h de reacción). Los resultados se observan en las Figuras 5 y 6.

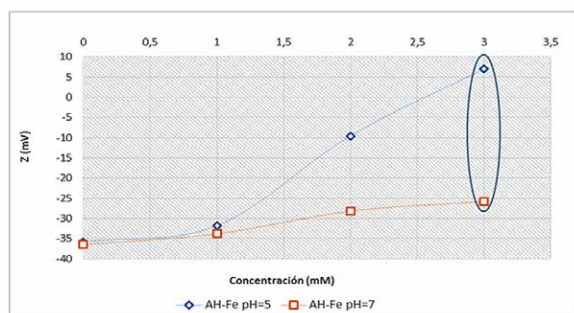


Figura 5. Efecto de la concentración de Fe<sup>3+</sup> en el ζ del AH-CH a pH = 5 y 7.

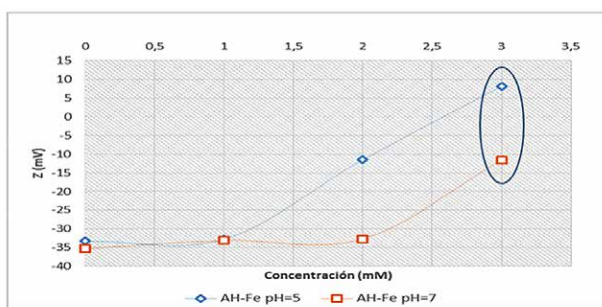


Figura 6. Efecto de la concentración de Fe<sup>3+</sup> en el ζ del AH-A a pH = 5 y 7.

El estudio del efecto de variación de la concentración (1, 2 y 3 mM) de Fe<sup>3+</sup> a pH de 5 y 7 mostró que la interacción es mayor a pH de 5. Así, como se presenta en la Tabla 2 los valores promedio obtenidos del ζ del AH-CH y AH-A en ausencia del metal y en la Tabla 3 se presentan los valores promedio de los mismos AHs en presencia del metal y podemos observar como los resultados se vuelven menos negativos o positivos al ir aumentando su concentración.

Tabla 2. Determinación del ζ de los AHs (AH-CH y AH-A) a pH = 5 y 7.

Muestra	Potencial Zeta (ζ)	
	pH = 5	pH = 7
AH-CH	-35.8 (7.35)	-36.5 (4.98)
AH-A	-33.3 (3.74)	-35.3 (3.29)

(en paréntesis %DSR de tres análisis)

Tabla 3. Determinación del ζ de los AHs con Fe<sup>3+</sup> (1, 2 y 3 mM) a pH = 5 y 7.

Muestras	Potencial Zeta (ζ)		
	pH = 5		
	1mM	2mM	3mM
AH-CH-Fe	-31.8 (2.23)	-9.53(7.30)	7.03
AH-A-Fe	-32.8 (10.60)	-11.5	8.15 (3.06)
Muestras	pH = 7		
	1mM	2mM	3mM
	AH-CH-Fe	-33.8 (4.27)	-28.2
AH-A-Fe	-33.1 (2.63)	-32.7 (4.50)	-11.6

(en paréntesis %DSR de tres análisis)

Se observa como el ζ se vuelve menos negativo cuando AH interacciona con Fe<sup>3+</sup>, lo cual muestra un proceso de coagulación al aumentar la concentración del metal y a un pH de 5 (Tabla 3).

## Conclusiones

Con el método de extracción utilizando con Na<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O e NaOH como agentes extractantes, se obtuvo un AH-A muy estable y poliácido, al igual que el AH comercial (AH-CH), como consecuencia tienen una gran capacidad de intercambio catiónico, lo cual favoreció las interacciones con Fe<sup>3+</sup> al aumentar la concentración del metal, llevándose a cabo el proceso de coagulación y favoreciendo dicho proceso a pH de 5, provocando la disminución de la carga neta negativa de la macromolécula, permitiendo así que tales complejos se aproximen e interaccionen a través de enlaces de puente de hidrógeno formándose agregados o aglomerados.

## Agradecimientos

SilviaNietoVelázquez agradece el financiamiento PROMEP con no. de oficio de liberación: DSA/103.5/14/10566.

## Referencias

- Aguilera-Herrero M. (1989). Tratado de edafología de México. 1ª Ed. México, D.F.: Facultad de Ciencias.
- Almendros G. (2008). Revisión analítica de sustancias húmicas en suelos y compost. *soilACE*, p.239-255. Recuperado el 2 de mayo de 2018 de: [https://www.soilace.com/pdf/pon2008/d26/Cas/04\\_GAlmendros.pdf](https://www.soilace.com/pdf/pon2008/d26/Cas/04_GAlmendros.pdf)

- Bohn H. L., McNeal B. L., O'connor G. A. (1993). Química del suelo. 1ª Ed. México: Limusa.
- Carpio-Domínguez K. (2017). Análisis fisicoquímico de ácidos húmicos y evaluación cinética de su agregación con iones Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Chin Y.P., Alken G., Loughlin E.O. (1994). Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 28 :1853-1858.
- Kloster N., Brigante M., Zanini G., Avena M. (2013). Aggregation kinetics of humic acids in the presence of calcium ions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 427: 76– 82.
- Kononova, M. M. (1982). *Materia Orgánica del Suelo*. 1ª Ed. Oikos-tau, Barcelona, España. p. 63-105.
- Licona Sánchez T. J. (2007). Extracción y Análisis Fisicoquímico de Ácidos Húmicos y su Interacción con Interacción con Cu(II) y Pb(II). Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Lizcano D. (2011). Caracterización fisicoquímica y espectroscópica de lignitos nacionales. Tesis de Licenciatura. Venezuela.
- Nieto Velázquez S. (2010). Estabilidad de los ácidos húmicos y su influencia en la interacción con Cu(II) y Pb(II). Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Ortega-Torres D. (1981). Química de suelos. Departamento de suelos. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México.
- Plaza C., Brunetti G., senesi N., Polo A. (2006). Molecular and quantitative analysis of metal ion binding to humic acids from sewage sludge and sludge-amended soils by fluorescence spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, (3), 40: 917–923.
- Ritchie J. D., Perdue E. M. (2003). Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochim. Cosmochim.* 67: 85-96.
- Stevenson F. J. (1994). *Humus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions*. 2<sup>nd</sup> Ed. Willey Interscience, New York, NY.
- Tipping, E. (2002). *Cation binding by humic substances*. West Nyack, N.Y. USA: Cambridge University Press.
- Watson M. A., Tubić A., Agbaba J., Nikić J., Maletić S., Molnar Jazić J., Dalmacija B., (2016). Response surface methodology investigation into the interactions between arsenic and humic acid in water during the coagulation process. *J. Hazardous Materials*. 312:150–158.